

# **DISERTASI**

## **PERUBAHAN KARAKTER EJAKULAT DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA MASA REPRODUKSI KAMBING KACANG DAN KAMBING PERANAKAN ETAWAH**



**SLAMET RIADI**

**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2004**

**PERUBAHAN KARAKTER EJAKULAT DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN  
PADA MASA REPRODUKSI KAMBING KACANG DAN  
KAMBING PERANAKAN ETAWAH**

**DISERTASI**

Untuk memperoleh Gelar Doktor  
dalam Program Studi Ilmu Kedokteran  
Pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga  
Telah dipertahankan di hadapan  
Panitia Ujian Doktor Terbuka  
Pada hari : Selasa  
Tanggal : 20 Juli 2004  
Pukul 10.<sup>00</sup> WIB

K. D. L. R.  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SUKABAYA

Oleh :

**SLAMET RIADI**  
**NIM. 090013732 D**

**Lembar Pengesahan**

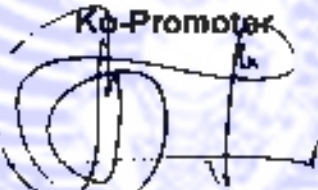
**DISERTASI INI TELAH DISETUJUI  
TANGGAL 12 AGUSTUS 2004**

Oleh  
Promotor



**Prof. Dr. H. Soehartojo Hardjopranjoto, drh., M.Sc.  
NIP. 130 189 851**

Ko-Promotor



**Mas'ud Harjadi, drh., M.Phil., Ph.D.  
NIP. 130 531 810**

Telah diuji pada  
Tanggal 14 Juni 2004  
**PANITIA PENGUJI DISERTASI**

**Ketua** · Prof H Bambang Rahino S., dr.  
**Anggota** 1. Prof. Dr. H. Soehartojo Hardjoprangoto, drh., M Sc  
2 Mas'ud Hanadi, drh., M Phil , PhD.  
3. Prof Dr. H. Sarmanu, drh , M.S.  
4 Prof. Dr. Ismudiono. drh., M.S.  
5 Dr. Nuryadi, Ir., M.S.  
6. Dr. Harjanto JM, dr , AIF.  
7 Dr. Wurlina Meles, drh , M.S.



Ditetapkan dengan Surat Keputusan  
Rektor Universitas Airlangga  
Nomor : 4678/JQ3/PP/2004  
Tanggal 22 Juni 2004

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur saya panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat serta hidayah-Nya, sehingga penulisan disertasi ini dapat terselesaikan dengan baik

Pada kesempatan ini perkenankanlah saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada

Prof Dr H Soehartojo Hardjopranjoto, drh , M.Sc., selaku Promotor yang telah membimbing, memberikan petunjuk dan saran-saran, serta melakukan perbaikan atas disertasi hingga selesai, dengan penuh perhatian dan kesabaran

Dr Masud Hariadi, drh , M Phil., selaku Ko-Promotor yang telah membimbing, mengarahkan, memberi dorongan semangat dan mengoreksi disertasi ini dengan kesabaran dan ketulusan.

Pemerintah Republik Indonesia melalui Menteri Pendidikan dan Kebudayaan yang telah memberi kesempatan dan bantuan dana BPPS (Beasiswa Pendidikan Pasca Sarjana), sehingga saya dapat mengikuti pendidikan Doktor pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga

Rektor Universitas Airlangga, Prof Dr Med Puruhito, dr., SpBTKV, dan mantan Rektor Prof H. Soedarto, dr , DTM&H, PhD., yang telah memberikan ijin dan berkenan menerima saya sebagai mahasiswa Program Pascasarjana Universitas Airlangga

Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Prof. Dr. H Muhammad Amin dr., SpP(K), dan mantan Direktur Prof. Dr. H R. Soedijono Tirtowidardjo, dr., SpTHT(K), yang telah memberi kesempatan kepada saya untuk mengikuti pendidikan Doktor pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga

Prof. Dr. Mandojo Rukmo, drg M.Sc., selaku Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Program Doktor Pascasarjana Universitas Airlangga dan Prof Dr Juliati Hood Alsagaff, dr., MS., SpPA., FIAC., selaku mantan Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Program Doktor Pascasarjana Universitas Airlangga yang telah membantu dalam kelancaran proses pendidikan Doktor pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga

Rektor Universitas Wijaya Kusuma Surabaya, Prof Bambang Rahino Setokoesoemo, dr dan mantan Rektor Prof HSM Soeatmadji, dr, yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk melanjutkan pendidikan Doktor pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Wijaya Kusuma Surabaya, Prof. Dr Setyo Budi, Ir , MS, dan mantan Dekan Prof IGB Amitaba, drh (Alm), yang telah memberikan ijin untuk melanjutkan pendidikan Doktor pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Kepala Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran, serta Pelaksana Harian Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Brawijaya Dr. Soewarno, dr dan Hj. Loeki Enggar Fitri, dr , M.Kes, atas fasilitas dan kerjasamanya yang sangat baik. Sekaligus saya ucapkan terima kasih kepada karyawan biomedik khususnya Mbak Ucik yang telah banyak membantu saya selama penelitian.

Teman-teman sejawat di Program Studi Veteriner, Fakultas Pertanian, Universitas Wijaya Kusuma Surabaya, Agus Sjafarjanto, drh., M.Kes., Roeswandono W, drh., M.Si., Miarsono Sigit, drh MP. dan Dyah Widhowati, drh. M.Kes., yang telah rela menggantikan tugas saya selama mengikuti pendidikan pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Para dosen dan panitia penguji dari kualifikasi sampai ujian usulan naskah disertasi di Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Prof. Pumomo Suryohudoyo, dr., Prof. Eddy Pranowo Soediby, dr., MPH. (Alm), Prof. Dr. H. J. Glinka, SVD, Prof Bambang Rahino S., dr., Prof. Soetandyo Wignyo Soebroto, MPA., Prof. Dr. Koento Wibisono Siswomihardjo, Prof. Dr Sarmanu, drh., MS., Prof. Dr. A. Zainuddin, Drs. Apt., Prof. Dr Kuntoro, dr., MPH., Prof. Dr. Soeharlono Taal Putra, dr., MS., Widodo J. Pudjirahardjo, dr., MS, MPH., DrPH., Siti Panani, dr., MPH., PhD., Fuad Amsyari, dr., MPH., PhD., Dr. L. Dyson, H. Mas'ud Hariadi, drh., M.Phil., PhD., Dr. Fedik A. Rantam, drh., Dr RTS Adikara, drh., MS., yang telah menambah pengetahuan dan wawasan keilmuan saya selama mengikuti pendidikan Doktor di Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Bapak dan Ibu Guru saya sejak dari Sekolah Dasar, Sekolah Menengah Pertama, Sekolah Menengah Atas hingga Perguruan Tinggi yang telah memberikan bimbingannya, semoga Allah SWT melimpahkan rahmad dan hidayah-Nya.

Keluarga besar Bapak Mawardi di Dusun Sukorejo, Desa Turirejo, Kecamatan Kedamean, Kabupaten Gresik yang telah menyediakan sarana dan prasarana selama penelitian. Sekaligus saya ucapkan terima kasih kepada Dasrul, Mufasirin, Didik Yuwono, Suliani, Solikan, Rudi dan Hadi yang telah membantu studi pustaka dan pelaksanaan penelitian di lapangan.

Segenap warga Dusun Sukorejo, Desa Turirejo, Kecamatan Kedamean, Kabupaten Gresik, yang telah membantu menyediakan hewan penelitian dengan berbagai upaya dan turut serta menjaga keamanan lingkungan

Seluruh teman peserta pendidikan Doktor di Program Pascasarjana Universitas Airlangga, yakni Teddy Ontoseno (Komting), Achmad Sjarwani, M Saiful, M. Hasan Mahfud, Ariyanto, Hudi Winarso, C.A. Nidom, Pudji Srianto, Gempur Santoso, Marji, Sugiarto, Hadi Ismono, Didik Budiyanto, Anwar Ma'ruf, Hj. Djelita Rickum, Doti Wahyuningsih, Sulistiana Prabowo, Sri Kunarti, Retno Puji Rahayu, Theresia Indah Budi, Indah Listiana Kriswandini, Ikeu Ekayanti, Sri Sulistyorini, Sri Wahyuningsih dan Aulani'am, saya mengucapkan terima kasih yang tak terhingga atas kebersamaan berbagi rasa suka dan duka, berbagi pengalaman dalam keilmuan serta kerja samanya yang teramat baik.

Kedua orang luaku Moh. Amin (Alm) dan Fasammah (Alm) yang dengan ketulusan dan keprihatinannya selalu membenkan dorongan semangat dan doa untuk memperoleh pendidikan yang setinggi-tingginya.

Kakak-kakaku dan adikku tersayang, Fudji Astuti, Edi Mulyono, Setiawati Udayani, Aminalus Fatimah dan Enny Kirana Suprapti, atas dorongan dan doa restunya sehingga pendidikan Program Doktor ini dapat saya selesaikan. Juga saudara-saudara iparku, Azis Wono Effendi, Sukarelawati, Djoko Pajitno, Moh. Hidayat dan Moh Joyo, atas motivasi dan dukungannya. Pada kesempatan ini

saya mohon maaf akibat kesibukan saya dalam menyelesaikan pendidikan Doktor ini terasa mengurangi keakraban dan kehangatan persaudaraan kita.

Ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya sampaikan kepada seluruh keluarga "CHIKA" *Pet Clinic & Grooming Salon*, yakni Suparmi, Verly, Elok, Gufron, Hardik dan Deka yang telah banyak berkorban baik moral maupun materi demi kelancaran studi ini.

Kepada semua pihak dan handai taulan yang telah membantu saya selama ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Akhirnya, semoga Allah SWT melimpahkan rahmat serta karunia-Nya kepada semua pihak yang telah membantu saya dengan tulus ikhlas dalam menyelesaikan pendidikan Doktor ini. Amin.



## PERUBAHAN KARAKTER EJAKULAT DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA MASA REPRODUKSI KAMBING KACANG DAN KAMBING PERANAKAN ETAWAH

Oleh :  
Slamet Riadi

### RINGKASAN

Perubahan karakter ejakulat dan aktivitas antioksidan selama masa reproduksi, perlu dipertimbangkan dalam rangka penyediaan semen segar untuk Inseminasi Buatan pada kambing kacang dan kambing peranakan etawah.

Penelitian ini bertujuan mengungkap mekanisme perubahan karakter ejakulat melalui pendekatan aktivitas antioksidan pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah.

Serangkaian penelitian observasional analitik dan *cross sectional* dilakukan pada kambing kacang dan kambing peranakan etawah. Analisis data yang digunakan meliputi analisis varian satu arah (Uji F) untuk melihat perbedaan antara kambing umur muda, sedang dan tua, yang dilanjutkan dengan Uji BNT untuk mengetahui derajat beda. Uji t digunakan untuk melihat perbedaan antara kambing kacang dan kambing peranakan etawah. Sedangkan analisis regresi digunakan untuk menguji pengaruh aktivitas SOD terhadap integritas membran, pengaruh aktivitas katalase terhadap integritas membran serta pengaruh integritas membran terhadap motilitas, persentase hidup dan abnormalitas spermatozoa.

Sebanyak 60 ekor kambing jantan, sehat dan mempunyai libido tinggi digunakan sebagai hewan penelitian, yang terdiri dari 30 ekor kambing kacang dan 30 ekor kambing peranakan etawah, masing-masing terbagi dalam 10 ekor kambing umur muda, 10 ekor kambing umur sedang dan 10 ekor kambing umur tua. Selama masa adaptasi kambing penelitian diberikan pakan hijauan secara *ad libitum* dan konsentrat 0.5 kg/ekor/hari. Penampungan semen dilakukan dengan menggunakan vagina buatan setelah dirangsang libidonya dengan menghadirkan kambing betina birahi selama 1 jam. Semen segar hasil penampungan dilakukan pemeriksaan keadaan umum semen, yang meliputi warna, konsistensi, gerakan massa dan derajat keasaman. Jika semen menunjukkan gambaran keadaan umum normal, dilanjutkan dengan pemeriksaan karakter ejakulat dan aktivitas antioksidan. Karakter ejakulat yang diamati meliputi volume semen, konsentrasi, motilitas, persentase hidup, abnormalitas dan integritas membran spermatozoa. Aktivitas antioksidan yang diamati meliputi aktivitas SOD dan katalase.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perubahan karakter ejakulat dan aktivitas antioksidan pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah. Volume semen meningkat secara tidak nyata ( $P>0.05$ ) pada kambing kacang  $0.82\pm 0.10$  ml,  $0.83\pm 0.12$  ml,  $0.87\pm 0.12$  ml dan meningkat secara nyata ( $P<0.05$ ) pada kambing peranakan etawah  $0.95\pm 0.11$  ml,  $1.36\pm 0.12$  ml,  $1.43\pm 0.16$  ml. Konsentrasi spermatozoa menurun secara nyata



( $P < 0.05$ ) pada kambing kacang  $3.19 \pm 0.12 \cdot 10^9/\text{ml}$ ,  $2.99 \pm 0.11 \cdot 10^9/\text{ml}$ ,  $2.88 \pm 0.22 \cdot 10^9/\text{ml}$  dan menurun secara tidak nyata ( $P > 0.05$ ) pada kambing peranakan etawah  $3.43 \pm 0.20 \cdot 10^9/\text{ml}$ ,  $3.28 \pm 0.28 \cdot 10^9/\text{ml}$ ,  $3.27 \pm 0.20 \cdot 10^9/\text{ml}$ . Motilitas spermatozoa menurun secara nyata ( $P < 0.05$ ) pada kambing kacang  $92.23 \pm 0.77 \%$ ,  $90.64 \pm 0.64 \%$ ,  $90.31 \pm 0.79 \%$  dan pada kambing peranakan etawah  $92.12 \pm 1.06 \%$ ,  $91.43 \pm 0.78 \%$ ,  $90.71 \pm 0.54 \%$ . Persentase hidup spermatozoa menurun secara nyata ( $P < 0.05$ ) pada kambing kacang  $93.61 \pm 0.97 \%$ ,  $92.23 \pm 1.37 \%$ ,  $91.92 \pm 1.30 \%$  dan menurun secara tidak nyata ( $P > 0.05$ ) pada kambing peranakan etawah  $93.37 \pm 1.13 \%$ ,  $92.93 \pm 1.32 \%$ ,  $92.27 \pm 1.09 \%$ . Abnormalitas spermatozoa meningkat secara tidak nyata ( $P > 0.05$ ) pada kambing kacang  $1.95 \pm 0.89 \%$ ,  $2.45 \pm 1.13 \%$ ,  $2.80 \pm 1.23 \%$  dan pada kambing peranakan etawah  $1.89 \pm 1.08 \%$ ,  $2.57 \pm 0.91 \%$ ,  $2.69 \pm 0.90 \%$ . Integritas membran spermatozoa menurun secara nyata ( $P < 0.05$ ) pada kambing kacang  $88.38 \pm 0.92 \%$ ,  $85.66 \pm 0.86 \%$ ,  $84.35 \pm 0.72 \%$  dan pada kambing peranakan etawah  $88.13 \pm 1.25 \%$ ,  $87.53 \pm 0.98 \%$ ,  $86.14 \pm 1.01 \%$ . Aktivitas SOD total menurun secara nyata ( $P < 0.05$ ) pada kambing kacang  $8.96 \pm 0.20 \text{ U/ml}$ ,  $8.07 \pm 0.30 \text{ U/ml}$ ,  $7.25 \pm 0.49 \text{ U/ml}$  dan pada kambing peranakan etawah  $7.58 \pm 0.29 \text{ U/ml}$ ,  $6.98 \pm 0.37 \text{ U/ml}$ ,  $6.59 \pm 0.30 \text{ U/ml}$ . Aktivitas SOD spesifik menurun secara nyata ( $P < 0.05$ ) pada kambing kacang  $13.98 \pm 0.31 \text{ U/mg protein}$ ,  $12.57 \pm 0.47 \text{ U/mg protein}$ ,  $9.38 \pm 0.63 \text{ U/mg protein}$  dan pada kambing peranakan etawah  $12.07 \pm 0.46 \text{ U/mg protein}$ ,  $11.04 \pm 0.59 \text{ U/mg protein}$ ,  $8.46 \pm 0.39 \text{ U/mg protein}$ . Aktivitas katalase total menurun secara nyata ( $P < 0.05$ ) pada kambing kacang  $17.70 \pm 0.06 \text{ U/ml}$ ,  $17.64 \pm 0.05 \text{ U/ml}$ ,  $17.54 \pm 0.06 \text{ U/ml}$  dan pada kambing peranakan etawah  $17.88 \pm 0.06 \text{ U/ml}$ ,  $17.73 \pm 0.06 \text{ U/ml}$ ,  $17.67 \pm 0.06 \text{ U/ml}$ . Aktivitas katalase spesifik menurun secara nyata ( $P < 0.05$ ) pada kambing kacang  $27.61 \pm 0.09 \text{ U/mg protein}$ ,  $27.47 \pm 0.08 \text{ U/mg protein}$ ,  $22.49 \pm 0.08 \text{ U/mg protein}$  dan pada kambing peranakan etawah  $28.49 \pm 0.10 \text{ U/mg protein}$ ,  $28.05 \pm 0.09 \text{ U/mg protein}$ ,  $22.86 \pm 0.07 \text{ U/mg protein}$ .

Kambing kacang menghasilkan ejakulat dengan volume, konsentrasi, motilitas (kambing umur sedang), integritas membran spermatozoa (kambing umur sedang dan tua) and aktivitas katalase lebih rendah ( $P < 0.05$ ), tetapi aktivitas SOD lebih tinggi dibandingkan kambing peranakan etawah ( $P < 0.05$ ). Motilitas (kambing umur muda dan tua), persentase hidup, abnormalitas dan integritas membran spermatozoa (kambing umur muda) tidak berbeda nyata antara kambing kacang dan kambing peranakan ( $P > 0.05$ ).

Aktivitas SOD berpengaruh positif terhadap integritas membran spermatozoa ( $P < 0.05$ ,  $r^2_{kc} = 92.25\%$  &  $r^2_{pe} = 82.08\%$ ), demikian juga aktivitas katalase berpengaruh positif terhadap integritas membran spermatozoa ( $P < 0.05$ ,  $r^2_{kc} = 84.03\%$  &  $r^2_{pe} = 77.00\%$ ). Selanjutnya Integritas membran berpengaruh positif terhadap motilitas ( $P < 0.05$ ,  $r^2_{kc} = 89.55\%$  &  $r^2_{pe} = 90.63\%$ ) dan persentase hidup spermatozoa ( $P < 0.05$ ,  $r^2_{kc} = 65.41\%$  &  $r^2_{pe} = 86.70\%$ ), tetapi berpengaruh negatif terhadap abnormalitas spermatozoa ( $P < 0.05$ ,  $r^2_{kc} = 43.83\%$  &  $r^2_{pe} = 83.70\%$ ) pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah.

Berdasarkan hasil tersebut, diungkapkan bahwa aktivitas antioksidan mempunyai peran dalam mempertahankan integritas membran spermatozoa, yang memberikan pengaruh terhadap perubahan karakter ejakulat pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah.

Untuk mendapatkan semen segar yang mempunyai karakter ejakulat dan aktivitas antioksidan paling baik pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah, disarankan menggunakan kambing umur muda (kurang dari 1.5 tahun). Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dalam rangka meningkatkan produktivitas kambing umur tua, mempertahankan kualitas semen segar dan mengurangi penurunan kualitas spermatozoa pada semen beku melalui penambahan antioksidan.



## EJACULATE CHARACTER AND ANTIOXIDANT ACTIVITY CHANGES IN SEMEN OF THE REPRODUCTIVE PERIOD OF KACANG AND PERANAKAN ETAWAH GOATS

By :  
Slamet Riadi

### SUMMARY

The changes of ejaculate character and antioxidant activity during a reproductive period should be taken into account in the supply of fresh semen for artificial insemination in kacang and peranakan etawah goats.

This research examined the mechanism of changes in ejaculate character using an antioxidant activity approach during the reproductive period of kacang and peranakan etawah goats.

An analytic observational and cross sectional study have been conducted on kacang and peranakan etawah goats. Data analysis used in this study comprised one-way variance analysis to find the difference between young, middle, and old-aged goats, and followed with LSD test to determine the degree of difference. The use of t-test was aimed to identify the difference between kacang goat and peranakan etawah goat. Regression analysis was carried out to test the influence of SOD activity on membrane integrity, the influence of catalase activity on membrane integrity and the influence of membrane integrity on sperm motility, viability, and abnormality.

A number of 60 healthy male goats with high libido were used as experimental animals. They comprised 30 kacang goats and 30 peranakan etawah goats, each consisting of 10 young goats, 10 middle-aged, and 10 old-goats. During the adaptation period, those goats were fed ad libitum with concentrate of 0.5 kg/day for each goat. Semen was collected using artificial vagina after the libido was stimulated by presenting them with estrous female goat for 1 hour. Fresh semen obtained was examined for its general condition, comprising its color, consistence, mass motility and acidity. Normal results were followed with the examination of ejaculate characters and antioxidant activity. In this study, ejaculate characters to be observed were semen volume, concentration, motility, viability, abnormality and membrane integrity of sperms. The major antioxidant activities to be examined were SOD and catalase activities in semen.

The results showed that along with the increasing age there were changes in ejaculate characters and antioxidant activity of the reproductive period of kacang and peranakan etawah. Semen volume increased non-significantly ( $P>0.05$ ) in kacang goat of  $0.82\pm 0.10$  ml,  $0.83\pm 0.12$  ml,  $0.87\pm 0.12$  ml and increased significantly ( $P<0.05$ ) in peranakan etawah goat of  $0.95\pm 0.11$  ml,  $1.36\pm 0.12$  ml,  $1.43\pm 0.16$  ml. Sperm concentration decreased significantly ( $P<0.05$ ) in kacang goat of  $3.19\pm 0.12$  10<sup>9</sup>/ml,  $2.99\pm 0.11$  10<sup>9</sup>/ml,  $2.88\pm 0.22$  10<sup>9</sup>/ml and decreased non-significantly ( $P>0.05$ ) in peranakan etawah goat of  $3.43\pm 0.20$  10<sup>9</sup>/ml,  $3.28\pm 0.28$  10<sup>9</sup>/ml,  $3.27\pm 0.20$  10<sup>9</sup>/ml. Sperm motility

decreased significantly ( $P < 0.05$ ) in kacang goat of  $92.23 \pm 0.77$  %,  $90.64 \pm 0.64$  %,  $90.31 \pm 0.79$  % and in peranakan etawah goat of  $92.12 \pm 1.06$  %,  $91.43 \pm 0.78$  %,  $90.71 \pm 0.54$  %. Sperm viability was decreasing significantly ( $P < 0.05$ ) in kacang goat of  $93.61 \pm 0.97$  %,  $92.23 \pm 1.37$  %,  $91.92 \pm 1.30$  % and decreasing non-significantly ( $P > 0.05$ ) in peranakan etawah goat of  $93.37 \pm 1.13$  %,  $92.93 \pm 1.32$  %,  $92.27 \pm 1.09$  %. Sperm abnormality increased non-significantly ( $P > 0.05$ ) in kacang goat of  $1.95 \pm 0.89$  %,  $2.45 \pm 1.13$  %,  $2.80 \pm 1.23$  % and in peranakan etawah goat of  $1.89 \pm 1.08$  %,  $2.57 \pm 0.91$  %,  $2.89 \pm 0.90$  %. Sperm membrane integrity was decreasing significantly ( $P < 0.05$ ) in kacang goat of  $88.38 \pm 0.92$  %,  $85.66 \pm 0.86$  %,  $84.35 \pm 0.72$  % and in peranakan etawah goat of  $88.13 \pm 1.25$  %,  $87.53 \pm 0.98$  %,  $86.14 \pm 1.01$  %. Total SOD activity decreased significantly ( $P < 0.05$ ) in kacang goat of  $8.96 \pm 0.20$  U/ml,  $8.07 \pm 0.30$  U/ml,  $7.25 \pm 0.49$  U/ml and in peranakan etawah goat of  $7.58 \pm 0.29$  U/ml,  $6.98 \pm 0.37$  U/ml,  $6.59 \pm 0.30$  U/ml. Specific SOD activity decreased significantly ( $P < 0.05$ ) in kacang goat of  $13.98 \pm 0.31$  U/mg protein,  $12.57 \pm 0.47$  U/mg protein,  $9.38 \pm 0.63$  U/mg protein and in peranakan etawah goat of  $12.07 \pm 0.46$  U/mg protein,  $11.04 \pm 0.59$  U/mg protein,  $8.46 \pm 0.39$  U/mg protein. Total catalase activity decreased significantly ( $P < 0.05$ ) in kacang goat of  $17.70 \pm 0.06$  U/ml,  $17.64 \pm 0.05$  U/ml,  $17.54 \pm 0.06$  U/ml and in peranakan etawah goat of  $17.88 \pm 0.06$  U/ml,  $17.73 \pm 0.06$  U/ml,  $17.67 \pm 0.06$  U/ml. Specific catalase activity decreased significantly ( $P < 0.05$ ) in kacang goat of  $27.61 \pm 0.09$  U/mg protein,  $27.47 \pm 0.08$  U/mg protein,  $22.49 \pm 0.08$  U/mg protein and in peranakan etawah goat of  $28.49 \pm 0.10$  U/mg protein,  $28.05 \pm 0.09$  U/mg protein,  $22.86 \pm 0.07$  U/mg protein.

The kacang goat had significant lower level of semen volume, concentration, motility (middle age goat) and membrane integrity (middle and old age goats) of sperms, catalase activity than peranakan etawah goat ( $P < 0.05$ ). The kacang goat had significant higher level of SOD activity than peranakan etawah goat ( $P < 0.05$ ). However, the kacang and peranakan etawah goats had non-significant different level of motility (young and old age goats), viability, abnormality and membrane integrity (young age old) of sperms ( $P > 0.05$ ).

The regression analysis indicated that SOD activity influenced positively membrane integrity of sperm ( $P < 0.05$ ,  $r^2_{kc} = 92.25\%$  &  $r^2_{pe} = 82.08\%$ ), catalase activity influenced positively membrane integrity of sperm ( $P < 0.05$ ,  $r^2_{kc} = 84.03\%$  &  $r^2_{pe} = 77.00\%$ ), sperm membrane integrity influenced positively motility ( $P < 0.05$ ,  $r^2_{kc} = 89.55\%$  &  $r^2_{pe} = 90.83\%$ ) and viability of sperms ( $P < 0.05$ ,  $r^2_{kc} = 65.41\%$  &  $r^2_{pe} = 86.70\%$ ), but sperm membrane integrity influenced negatively abnormality of sperm ( $P < 0.05$ ,  $r^2_{kc} = 43.83\%$  &  $r^2_{pe} = 83.70\%$ ).

This study revealed that the antioxidant activity has influence in maintaining the integrity of sperm membrane, which affected the change of ejaculate character during reproductive period in kacang and peranakan etawah goats.

To obtain fresh semen that has the best ejaculate character and antioxidant activity during reproductive period in kacang and peranakan etawah goats, it is recommended to use young goats (aged less than 1.5 years). Further studies should be conducted to improve the productivity of aged goats, to maintain the quality of fresh semen and to decrease the reduction of sperm quality in frozen semen by the addition of antioxidant.

## ABSTRACT

### EJACULATE CHARACTER AND ANTIOXIDANT ACTIVITY CHANGES IN SEMEN OF THE REPRODUCTIVE PERIOD OF KACANG AND PERANAKAN ETAWAH GOATS

By :  
Slamet Riadi

The ejaculate character and antioxidant activity of semen from kacang and peranakan etawah goats were compared between the young, middle and old age of their reproductive period. In this study, semen volume, concentration, motility, viability, abnormality and membrane integrity of sperms, superoxide dismutase (SOD) and catalase activities in semen were examined in 60 male goats. Semen samples were obtained from kacang goat (n=30) and peranakan etawah goat (n=30) which were divided into three age groups.

The results showed that along with the increasing age there were changes in ejaculate characters and antioxidant activity of the reproductive period of kacang and peranakan etawah goats. Semen volume increased non-significantly ( $P>0.05$ ) in kacang goat and increased significantly ( $P<0.05$ ) in peranakan etawah goat. Sperm concentration decreased significantly ( $P<0.05$ ) in kacang goat and decreased non-significantly ( $P>0.05$ ) in peranakan etawah goat. Sperm viability decreased significantly ( $P<0.05$ ) in kacang goat and decreased non-significantly ( $P>0.05$ ) in peranakan etawah goat. Motility and membrane integrity of sperms decreased significantly ( $P<0.05$ ) in kacang and peranakan etawah goats. Sperm abnormality increased non-significantly ( $P>0.05$ ) in kacang and peranakan etawah goats. SOD and catalase activities decreased significantly ( $P<0.05$ ) in kacang and peranakan etawah goats. The regression analysis indicated that SOD activity had positive influence on membrane integrity of sperm ( $P<0.05$ ), catalase activity had positive influence on membrane integrity of sperm ( $P<0.05$ ), sperm membrane integrity had positive influence on motility and viability of sperms ( $P<0.05$ ), while sperm membrane integrity had negative influence on abnormality of sperm ( $P<0.05$ ).

It can be concluded that, the change of ejaculate character in old goats is influenced by a marked reduction within the semen of the major antioxidant enzymes system, superoxide dismutase and catalase

**Keywords : ejaculate, superoxide dismutase, catalase, age, goats**

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
Sampul Depan .....	I
Sampul Dalam .....	ii
Prasyarat Gelar .....	iii
Persetujuan .....	iv
Penetapan Panitia .....	v
Ucapan Terima Kasih .....	vi
Ringkasan .....	ix
Summary .....	xii
Abstract .....	xiv
DAFTAR ISI .....	xv
DAFTAR GAMBAR .....	xviii
DAFTAR TABEL .....	xx
DAFTAR LAMPIRAN .....	xxi
DAFTAR SINGKATAN .....	xxiii
<b>BAB 1 PENDAHULUAN ..</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang Masalah .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	5
1.3 Tujuan Penelitian .....	6
1.3.1 Tujuan Umum .....	6
1.3.2 Tujuan Khusus .....	6
1.4 Manfaat Penelitian .....	7
1.4.1 Manfaat Teoritis .....	7
1.4.2 Manfaat Praktis .....	7
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA ..</b>	<b>8</b>
2.1 Tinjauan Umum Kambing .....	8
2.2 Karakter Ejakulat Kambing .....	11
2.3 Komponen Semen .....	13
2.4 Membran Spermatozoa .....	16
2.5 Spermatogenesis .....	18
2.6 Senyawa Oksigen Reaktif (SOR) .....	20
2.7 Sistem Antioksidan .....	22
2.7.1 Superoksida Dismutase (SOD) .....	25
2.7.2 Katalase .....	29
2.8 Stres Oksidatif .....	31
2.8.1 Peroksidasi Lipid .....	32
2.8.2 Peroksidasi Protein .....	33
2.8.3 Peroksidasi DNA .....	34
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN</b>	<b>36</b>
3.1 Kerangka Konseptual .....	36
3.2 Hipotesis Penelitian .....	39
<b>BAB 4 METODE PENELITIAN .....</b>	<b>40</b>
4.1 Lokasi dan Waktu Penelitian .....	40
4.2 Jenis Penelitian .....	40
4.3 Populasi, Sampel dan Besar Sampel .....	40

	<b>Halaman</b>
4.4 Variabel Penelitian .....	41
4.4.1 Klasifikasi Variabel .....	41
4.4.2 Definisi Operasional Variabel .....	42
4.5 Materi Penelitian .....	44
4.6 Peralatan Penelitian .....	45
4.7 Prosedur Pengumpulan Data .....	45
4.7.1 Persiapan Hewan Penelitian .....	45
4.7.2 Penampungan Semen .....	46
4.7.3 Pemeriksaan Karakter Ejakulat .....	46
4.7.4 Uji Aktivitas SOD .....	49
4.7.5 Uji Aktivitas Katalase .....	50
4.8 Analisis Data .....	50
<b>BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA .....</b>	<b>53</b>
5.1 Perubahan Karakter Ejakulat pada Masa Reproduksi Kambing Kacang dan Kambing Peranakan Etawah .....	53
5.2 Perubahan Aktivitas Antioksidan pada Masa Reproduksi Kambing Kacang dan Kambing Peranakan Etawah .....	60
5.3 Perbedaan Karakter Ejakulat dan Aktivitas Antioksidan antara Kambing Kacang dan Kambing Peranakan Etawah .....	65
5.4 Pengaruh Aktivitas SOD terhadap Integritas Membran Spermatozoa pada Masa Reproduksi Kambing Kacang dan Kambing Peranakan Etawah .....	68
5.5 Pengaruh Aktivitas Katalase terhadap Integritas Membran Spermatozoa pada Masa Reproduksi Kambing Kacang dan Kambing Peranakan Etawah .....	70
5.6 Pengaruh Integritas Membran terhadap Motilitas, Persentase Hidup dan Abnormalitas Spermatozoa pada Masa Reproduksi Kambing Kacang dan Kambing Peranakan Etawah .....	71
<b>BAB 6 PEMBAHASAN .....</b>	<b>77</b>
6.1 Perubahan Karakter Ejakulat pada masa Reproduksi Kambing Kacang dan Kambing Peranakan Etawah .....	77
6.2 Perubahan Aktivitas Antioksidan pada masa Reproduksi Kambing Kacang dan Kambing Peranakan Etawah .....	89
6.3 Perbedaan Karakter Ejakulat dan Aktivitas Antioksidan antara Kambing Kacang dan Kambing Peranakan Etawah .....	94
6.4 Mekanisme Perubahan Karakter Ejakulat melalui Pendekatan Aktivitas Antioksidan pada masa Reproduksi Kambing Kacang dan Kambing Peranakan Etawah .....	96
6.4.1 Pengaruh Aktivitas SOD dan Katalase terhadap Integritas Membran Spermatozoa .....	102

	<b>Halaman</b>
6.4.2 Pengaruh Integritas Membran terhadap Motilitas Spermatozoa .....	106
6.4.3 Pengaruh Integritas Membran terhadap Persentase Hidup Spermatozoa .....	109
6.4.4 Pengaruh Integritas Membran terhadap Abnormalitas Spermatozoa ... ..	111
<b>BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>114</b>
7.1 Kesimpulan .....	114
7.2 Saran-Saran .....	115
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>117</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>129</b>





## DAFTAR GAMBAR

		<b>Halaman</b>
Gambar 2.1	Sketsa morfologi kambing kacang, kambing etawah dan kambing peranakan etawah (Dwiyanto, 1994) ...	9
Gambar 2.2	Diagram struktur spermatozoa (Toelihere, 1985) .....	15
Gambar 2.3	Siklus reaksi yang menunjukkan katalase dalam keadaan istirahat dan senyawa I netral (Anderson and Dawson, 1991) .....	30
Gambar 3.1	Skematis Kerangka Konseptual Penelitian .....	38
Gambar 4.1	Skematis Kerangka Operasional Penelitian .....	52
Gambar 5.1	Volume semen pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua .....	54
Gambar 5.2	Konsentrasi spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua .....	55
Gambar 5.3	Motilitas spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua .....	57
Gambar 5.4	Persentase hidup spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua .....	58
Gambar 5.5	Abnormalitas spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua .....	58
Gambar 5.6	Integritas membran spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua .....	59
Gambar 5.7	Aktivitas SOD total pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua .....	61
Gambar 5.8	Aktivitas SOD spesifik pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua .....	62
Gambar 5.9	Aktivitas katalase total pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua .....	63
Gambar 5.10	Aktivitas katalase spesifik pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua .....	64
Gambar 5.11	Garis linier yang menunjukkan pengaruh aktivitas SOD terhadap integritas membran spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang .....	69

	<b>Halaman</b>	
Gambar 5.12	Garis linier yang menunjukkan pengaruh aktivitas SOD terhadap integritas membran spermatozoa pada masa reproduksi kambing peranakan etawah . . . . .	69
Gambar 5.13	Garis linier yang menunjukkan pengaruh aktivitas katalase terhadap integritas membran spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang . . . . .	70
Gambar 5.14	Garis linier yang menunjukkan pengaruh aktivitas katalase terhadap integritas membran spermatozoa pada masa reproduksi kambing peranakan etawah . . . . .	71
Gambar 5.15	Garis linier yang menunjukkan pengaruh integritas membran terhadap motilitas spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang . . . . .	72
Gambar 5.16	Garis linier yang menunjukkan pengaruh integritas membran terhadap motilitas spermatozoa pada masa reproduksi kambing peranakan etawah . . . . .	73
Gambar 5.17	Garis linier yang menunjukkan pengaruh integritas membran terhadap persentase hidup spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang . . . . .	73
Gambar 5.18	Garis linier yang menunjukkan pengaruh integritas membran terhadap persentase hidup spermatozoa pada masa reproduksi kambing peranakan etawah . . . . .	74
Gambar 5.19	Garis linier yang menunjukkan pengaruh integritas membran terhadap abnormalitas spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang . . . . .	75
Gambar 5.20	Garis linier yang menunjukkan pengaruh integritas membran terhadap abnormalitas spermatozoa pada masa reproduksi kambing peranakan etawah . . . . .	75
Gambar 6.1	Beberapa bentuk abnormalitas spermatozoa (Toelinere, 1985) . . . . .	85
Gambar 6.2	Skema hubungan antara metabolisme seluler dan peroksidasi lipid yang melibatkan aktivitas SOD dan katalase (Hammerstedt, 1993) . . . . .	98
Gambar 6.3	Aur perubahan karakter ejakulat melalui pendekatan aktivitas antioksidan pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah . . . . .	102

## DAFTAR TABEL

		<b>Halaman</b>
Tabel 5.1	Volume semen dan konsentrasi spermatozoa pada masa reproduksi kambing umur muda, sedang dan tua	53
Tabel 5.2	Motilitas, persentase hidup, abnormalitas dan integritas membran spermatozoa pada masa reproduksi kambing umur muda, sedang dan tua .....	56
Tabel 5.3	Aktivitas SOD dalam semen pada masa reproduksi kambing umur muda, sedang dan tua .....	60
Tabel 5.4	Aktivitas katalase dalam semen pada masa reproduksi kambing umur muda, sedang dan tua .....	62
Tabel 5.5	Perbedaan volume semen dan konsentrasi spermatozoa antara kambing kacang dan kambing peranakan etawah .....	65
Tabel 5.6	Perbedaan motilitas, persentase hidup, abnormalitas dan integritas membran spermatozoa antara kambing kacang dan kambing peranakan etawah .....	66
Tabel 5.7	Perbedaan aktivitas SOD dalam semen antara kambing kacang dan kambing peranakan etawah .....	67
Tabel 5.8	Perbedaan aktivitas katalase dalam semen antara kambing kacang dan kambing peranakan etawah .....	68

## DAFTAR LAMPIRAN

		Halaman
Lampiran 1	Perbedaan volume semen kambing umur muda, sedang dan tua (ml) .....	130
Lampiran 2	Perbedaan volume semen kambing kacang dan kambing peranakan etawah (ml) .....	132
Lampiran 3	Perbedaan konsentrasi spermatozoa dari semen kambing umur muda, sedang dan tua ( $10^6/ml$ ) .....	134
Lampiran 4	Perbedaan konsentrasi spermatozoa dari semen kambing kacang dan kambing peranakan etawah ( $10^9/ml$ ) .....	136
Lampiran 5	Perbedaan motilitas spermatozoa dari semen kambing umur muda, sedang dan tua (%) .....	138
Lampiran 6	Perbedaan motilitas spermatozoa dari semen kambing kacang dan kambing peranakan etawah (%) .....	140
Lampiran 7	Perbedaan persentase hidup spermatozoa dari semen kambing umur muda, sedang dan tua (%) .....	142
Lampiran 8	Perbedaan persentase hidup spermatozoa dari semen kambing kacang dan kambing peranakan etawah (%) .....	144
Lampiran 9	Perbedaan abnormalitas spermatozoa dari semen kambing umur muda, sedang dan tua (%) .....	146
Lampiran 10	Perbedaan abnormalitas spermatozoa dari semen kambing kacang dan kambing peranakan etawah (%) .....	148
Lampiran 11	Perbedaan integritas membran spermatozoa dari semen kambing umur muda, sedang dan tua (%) .....	150
Lampiran 12	Perbedaan integritas membran spermatozoa dari semen kambing kacang dan kambing peranakan etawah (%) .....	152
Lampiran 13	Perbedaan aktivitas SOD total dari semen kambing umur muda, sedang dan tua (Unit/ml semen) .....	154
Lampiran 14	Perbedaan aktivitas SOD total dari semen kambing kacang dan kambing peranakan etawah (Unit/ml semen).....	156
Lampiran 15	Perbedaan aktivitas SOD spesifik dari semen kambing umur muda, sedang dan tua (Unit/mg protein) .....	158
Lampiran 16	Perbedaan aktivitas SOD spesifik dari semen kambing kacang dan kambing peranakan etawah (Unit/mg protein) .....	160
Lampiran 17	Perbedaan aktivitas katalase total dari semen kambing umur muda, sedang dan tua (Unit/ml semen) .....	162

Lampiran 18	Perbedaan aktivitas katalase total dan semen kambing kacang dan kambing peranakan etawah (Unit/ml semen) .. .. .	164
Lampiran 19	Perbedaan aktivitas katalase spesifik dari semen kambing umur muda, sedang dan tua (Unit/mg protein) .. .. .	166
Lampiran 20	Perbedaan aktivitas katalase spesifik dari semen kambing kacang dan kambing peranakan etawah (Unit/mg protein) .. .. .	168
Lampiran 21	Pengaruh aktivitas SOD terhadap integritas membran spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah .. .. .	170
Lampiran 22	Pengaruh aktivitas katalase terhadap integritas membran spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah .. .. .	171
Lampiran 23	Pengaruh integritas membran terhadap motilitas spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah .. .. .	172
Lampiran 24	Pengaruh integritas membran terhadap persentase hidup spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah .. .. .	173
Lampiran 25	Pengaruh integritas membran terhadap abnormalitas spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah .. .. .	174

## DAFTAR SINGKATAN

ADP	= Adenosine Diphosphate
AMP	= Adenosine Monophosphat
ATP	= Adenosine Triphosphate
BIB	= Balai Inseminasi Buatan
BNT	= Beda Nyala Terkecil
DNA	= Deoxyribo Nucleic Acid
Fe	= Ferrum
GSH	= Gluthathione
GSTs	= Gluthathione s-transferase
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	= Hidrogen Peroksida
HOST	= Hypoosmotic Swelling Test
L <sup>•</sup>	= Radikal Lipid
LO <sup>•</sup>	= Radikal Alkoksil
LOO <sup>•</sup>	= Radikal Lipid Peroksil
LOOH	= Lipid Hidroperoksidase
MDA	= Malondialdehyde
NADPH	= Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate
NBT	= Nitro Blue Tetrazolium
NO <sup>•</sup>	= Radikal Nitrit Oksida
O <sub>2</sub>	= Oksigen
O <sub>2</sub> <sup>•</sup>	= Radikal Superoksida
OH <sup>•</sup>	= Radikal Hidroksil
ONOO <sup>•</sup>	= Radikal Nitrit Peroksil
r	= Koefisien Korelasi
r <sup>2</sup>	= Koefisien Determinasi
ROO <sup>•</sup>	= Radikal Peroksil
SOD	= Superoksida Dismutase
SOR	= Senyawa Oksigen Reaktif
U	= Unit



## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang Masalah

Teknologi reproduksi inseminasi buatan pada kambing belum banyak dimanfaatkan untuk pengembangan populasi ternak di Indonesia. Penerapan teknologi reproduksi inseminasi buatan pada kambing ini, masih cenderung menggunakan semen segar dan kadang-kadang diperbanyak volumenya melalui pengenceran untuk digunakan melayani beberapa betina dalam kurun waktu yang sangat terbatas

Penyediaan semen segar untuk keperluan inseminasi buatan pada kambing harus memperhatikan kuantitas dan kualitas semen, agar menghasilkan angka konsepsi yang lebih baik. Kuantitas dan kualitas semen ini dipengaruhi oleh berbagai macam faktor, diantaranya umur dan bangsa kambing. Semen segar yang berasal dari kambing umur muda, masih sering diragukan kuantitas dan kualitasnya untuk digunakan dalam inseminasi buatan. Sebaliknya semen segar yang berasal dari kambing umur tua sudah dianggap mengalami penurunan kuantitas maupun kualitas. Sementara itu, semen segar yang berasal dari bangsa kambing yang berbeda mempunyai keragaman karakter ejakulat sesuai dengan performannya

Beberapa indikator kuantitas dan kualitas semen yang digunakan untuk menggambarkan karakter ejakulat adalah volume, konsentrasi, motilitas, persentase hidup, abnormalitas dan integritas membran spermatozoa. Masing-masing indikator kuantitas dan kualitas semen ini saling berhubungan dan

mempunyai pengaruh terhadap fertilitas spermatozoa. Menurut Goyal *et al* (1996) motilitas spermatozoa yang tinggi belum menjamin fertilitas yang tinggi, karena fertilitas spermatozoa masih ditentukan juga oleh kondisi morfologi spermatozoa. Singh *et al.* (1992) melaporkan bahwa persentase abnormalitas spermatozoa berkorelasi negatif terhadap angka fertilitas. Sementara Evan *and* Graham (1989) melaporkan bahwa integritas membran spermatozoa berkorelasi positif dengan tingkat keberhasilan proses pembuahan pada oosit.

Biologi sel spermatozoa merupakan bidang yang berkembang sangat cepat dan banyak laporan penelitian yang berhasil mengidentifikasi *marker* biokimia dari fungsi spermatozoa. Yang menarik perhatian adalah bahwa akumulasi senyawa oksigen reaktif (SOR) mempunyai pengaruh besar terhadap penurunan fungsi spermatozoa. Kerusakan yang disebabkan oleh SOR merupakan faktor yang mempunyai kontribusi besar terhadap kerusakan integritas membran dan disfungsi sel. Evan *and* Graham (1989) menjelaskan bahwa kerusakan integritas membran spermatozoa akan meningkatkan permeabilitas membran sehingga integritas sel menjadi terganggu. Motilitas spermatozoa tergantung pada integritas sel, bila asam lemak di dalam fosfolipid yang merupakan komponen utama mitokondria teroksidasi oleh SOR, akan mengakibatkan kerusakan spermatozoa dan menurunnya motilitas spermatozoa. Hasil penelitian yang menunjukkan bahwa spermatozoa dapat menghasilkan SOR seperti anion superoksida dan hidrogen peroksida telah banyak dilaporkan oleh peneliti seperti Aitken *and* Clarkson (1987) dan Alvarez *et al.* (1987).

Menurut Jones *et al.* (1993), radikal bebas terlibat dalam berbagai proses biologis dan sebagian besar berasal dari proses biologis alami yang melibatkan



SOR termasuk radikal bebas oksigen. Senyawa tersebut terbentuk dari oksigen yang diperlukan spermatozoa untuk menghasilkan energi atau adenosin trifosfat (ATP) melalui proses fosforilasi oksidatif di dalam mitokondria. Dalam keadaan normal SOR diperlukan untuk merangsang hiperaktivasi dan kapasitas spermatozoa, namun dalam konsentrasi tinggi dan tidak mampu diredam oleh antioksidan yang ada pada plasma semen akan merusak komponen-komponen sel yang penting sehingga tidak dapat mempertahankan integritas dan kehidupan spermatozoa. Keadaan ini terjadi bila spermatozoa mengalami stres oksidatif, yang diakibatkan oleh produksi SOR sangat meningkat karena ambilan oksigen dan metabolisme spermatozoa meningkat (De Lamirande and Gagnon, 1993; Flaherty *et al.* 1999; De Lamirande *et al.*, 1997).

Stres oksidatif yang merusak spermatozoa tidak hanya dipengaruhi oleh kelebihan SOR yang dihasilkan oleh sel spermatozoa, tetapi juga dihasilkan oleh tipe sel lain yang berasal dari ejakulat, seperti partikel neutrofil yang penting sebagai sumber SOR. Pada keadaan konsentrasi neutrofil tinggi dapat menimbulkan stres oksidatif.

Produk utama sistem yang menghasilkan SOR spermatozoa adalah anion superoksida dan mengalami reaksi dismutasi menjadi hidrogen peroksida di bawah pengaruh superoksida dismutase (SOD). Hidrogen peroksida selanjutnya akan dirubah menjadi air dan oksigen oleh katalase, dan melalui sistem antioksidan reaksi berantai SOR akan dihambat. Menurut Jones *et al.* (1993) spermatozoa dilindungi oleh kekuatan kombinasi antioksidan yang ada di dalam plasma semen.

Aktivitas SOD dan katalase dianggap secara alami sangat efektif melindungi spermatozoa dengan mempertahankan integritas membran spermatozoa melalui perannya sebagai *scavenger* terhadap meningkatnya SOR. Alvarez *et al* (1987) menjelaskan bahwa aktivitas SOD dan katalase pada spermatozoa berperan sangat baik dalam mempertahankan kelangsungan hidup spermatozoa.

Aktivitas SOD dan katalase dalam melindungi spermatozoa terhadap meningkatnya SOR dapat digunakan sebagai dasar untuk mengidentifikasi perubahan karakter ejakulat selama masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah. Pengetahuan tentang aktivitas SOD dan katalase sebagai antioksidan sangat diperlukan untuk mendukung upaya mendapatkan semen segar yang mempunyai karakter ejakulat yang baik dan dapat digunakan dalam inseminasi buatan.

Kajian mengenai perubahan karakter ejakulat akibat menurunnya aktivitas antioksidan dalam semen, khususnya SOD dan katalase selama masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah belum pernah ada laporan. Mengingat bahwa pengembangan teknologi inseminasi buatan pada kambing, masih berorientasi pada kuantitas dan kualitas semen dalam rangka meningkatkan angka konsepsi, maka perlu dilakukan penelitian tentang perubahan karakter ejakulat dan aktivitas antioksidan pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan penjelasan di atas, terdapat beberapa rumusan masalah yang perlu dipecahkan yakni

1. Bagaimanakah perubahan karakter ejakulat pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah seiring dengan bertambahnya umur kambing ?
2. Bagaimanakah perubahan aktivitas antioksidan pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah seiring dengan bertambahnya umur kambing ?
3. Bagaimanakah perbedaan karakter ejakulat dan aktivitas antioksidan antara kambing kacang dan kambing peranakan etawah pada umur muda, sedang dan tua ?
4. Apakah aktivitas SOD berpengaruh terhadap integritas membran spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah ?
5. Apakah aktivitas katalase berpengaruh terhadap integritas membran spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah ?
6. Apakah integritas membran spermatozoa berpengaruh terhadap motilitas, persentase hidup dan abnormalitas spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah ?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan Umum**

Mengungkapkan mekanisme perubahan karakter ejakulat melalui pendekatan aktivitas antioksidan pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah.

### **1.3.2 Tujuan Khusus**

1. Mengungkapkan perubahan karakter ejakulat pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah seiring dengan bertambahnya umur kambing.
2. Mengungkapkan perubahan aktivitas antioksidan pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah seiring dengan bertambahnya umur kambing.
3. Mengungkapkan perbedaan karakter ejakulat dan aktivitas antioksidan antara kambing kacang dan kambing peranakan etawah pada umur muda, sedang dan tua ?
4. Mengungkapkan pengaruh aktivitas SOD terhadap integritas membran spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah.
5. Mengungkapkan pengaruh aktivitas katalase terhadap integritas membran spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah.

6. Mengungkapkan pengaruh integritas membran spermatozoa terhadap motilitas, persentase hidup dan abnormalitas spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah

## **1.4 Manfaat Penelitian**

### **1.4.1 Manfaat Teoritis**

Memberikan penjelasan tentang mekanisme perubahan karakter ejakulat melalui pendekatan aktivitas antioksidan pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah

### **1.4.2 Manfaat Praktis**

1. Memberikan informasi mengenai umur kambing yang tepat digunakan untuk mendapatkan semen segar yang mempunyai karakter ejakulat dan aktivitas antioksidan paling baik pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah
2. Memberikan wawasan baru dalam rangka meningkatkan produktivitas kambing umur tua, mempertahankan kualitas semen segar dan mengurangi penurunan kualitas spermatozoa pada semen beku melalui pendekatan aktivitas antioksidan.

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Tinjauan Umum Kambing

Kambing hasil domestikasi manusia diturunkan dari tiga jenis kambing liar yakni *Capra hircus*, *Capra falconeri* dan *Capra prisca*. *Capra hircus* merupakan jenis kambing liar yang berasal dari daerah sekitar perbatasan Pakistan dan Turki. *Capra falconeri* merupakan jenis kambing liar yang berasal dari daerah sepanjang Kashmir, India. *Capra prisca* merupakan jenis kambing liar yang berasal dari daerah sepanjang Balkan (Haenlein, 1992 dan Murtidjo, 1993).

Menurut Dwiyanto (1994) ada beberapa jenis kambing yang dikenal saat ini dan telah tersebar di seluruh dunia. Di Indonesia dikenal kambing kacang, kambing etawah, kambing peranakan etawah, kambing saanen, kambing marica dan kambing gembrong, sedangkan di negara lain dikenal kambing alpine, kambing anglo nubian, kambing angora, kambing kashmir, kambing toggenburg dan kambing indian. Sodik dan Tawfik (2003) menyatakan bahwa bangsa kambing yang didapatkan di Indonesia sebagian besar adalah kambing kacang dan kambing peranakan etawah.

Kambing kacang merupakan jenis kambing lokal yang telah lama berkembang di Indonesia. Pertumbuhan kambing kacang relatif kecil, kepala ringan dan kecil, telinga pendek dan tegak lurus mengarah ke atas. Kehidupannya sangat sederhana, memiliki daya adaptasi yang tinggi terhadap kondisi alam setempat dan reproduksinya dapat digolongkan sangat tinggi. Pada umumnya kambing kacang memiliki warna bulu tunggal yakni putih, hitam dan

coklat, kadang-kadang campuran dari ketiga warna tersebut. Kambing kacang jantan maupun betina memiliki tanduk antara 8 cm sampai 10 cm. Berat badan kambing kacang dewasa rata-rata sekitar 17 kg sampai 30 kg (Murtidjo, 1993).

Kambing peranakan etawah merupakan jenis kambing dari hasil persilangan antara kambing kacang dengan kambing etawah. Kambing peranakan etawah memiliki sifat antara kambing etawah dengan kambing kacang. Spesifikasi dari kambing ini adalah hidung agak melengkung telinga agak besar dan terkulai. Berat tubuh kambing peranakan etawah sekitar 32 kg sampai 37 kg. Kambing peranakan etawah merupakan kambing tipe dwiguna yaitu tipe perah dan tipe daging, mempunyai daya adaptasi yang baik sehingga berpotensi untuk dipelihara di pedesaan di Indonesia (Murtidjo, 1993, Dwiyanto, 1994).



**Gambar 2.1** Sketsa morfologi kambing kacang, kambing etawah dan kambing peranakan etawah (Dwiyanto, 1994).

Untuk pengelolaan reproduksi pada kambing yang baik, perlu adanya kontrol terhadap proses reproduksi yang dilakukan baik dari segi teknik maupun

genetik (Chemineau *et al.*, 1999). Penilaian keadaan individual kambing yang akan dipilih sebagai bibit atau bakalan pada prinsipnya dilakukan berdasarkan umur, bentuk luar tubuh, daya pertumbuhan dan temperamen. Syarat yang paling penting untuk seleksi calon bibit kambing jantan adalah kambing harus sehat, umur masih muda, tidak pernah terkena penyakit berbahaya dan mempunyai libido yang tinggi (Murtidjo, 1993). Libido atau agresivitas kambing pejantan terhadap kambing betina dievaluasi berdasarkan waktu reaksi (*reaction time*) yaitu waktu yang dihitung sejak timbulnya rangsangan, yang ditandai dengan kemampuan menaiki betina yang sedang birahi sampai saat terjadinya kopulasi (Hardjopranjolo, 1995)

Dewasa kelamin kambing jantan dicapai pada umur 4 bulan sampai 6 bulan yaitu sejak terjadinya ejakulasi semen yang pertama, sedangkan kambing betina dewasa kelamin dicapai pada umur 6 bulan sampai 9 bulan yaitu saat menunjukkan gejala birahi yang pertama. Kambing betina dapat mulai dikawinkan untuk pertama kali pada umur 9 bulan, sedangkan kambing jantan yang ideal untuk menjadi pemacak setelah mencapai umur diatas 12 bulan. Masa birahi kambing betina berlangsung selama 24 jam sampai 36 jam dan siklus birahi berlangsung 17 hari sampai 21 hari. Lama kebuntingan kambing berlangsung selama 150 hari sampai 154 hari atau rata-rata 152 hari. Masa produktif kambing betina yang optimal 8 tahun sampai 10 tahun, setelah itu produksinya berangsur-angsur menurun (Hafez, 2000).

Ejakulasi semen pada kambing jantan yang mengandung spermatozoa dengan motilitas baik pertama kali terjadi pada umur 17 minggu. Kambing Tokara jantan mencapai pubertas sekitar umur 4 bulan tetapi perkembangan



testis secara terus menerus terjadi pada umur 12 bulan (Nishimura *et al.* 2000). Menurut Sandhi *et al.* (1988) pubertas pada kambing peranakan etawah jantan rata-rata tercapai pada umur 22.84 minggu, dengan bobot sekitar 18.7 kg

## 2.2 Karakter Ejakulat Kambing

Karakter ejakulat kambing dapat diamati berdasarkan kuantitas semen (volume dan konsentrasi spermatozoa) dan kualitas semen (persentase hidup, abnormalitas, motilitas dan integritas membran spermatozoa). Adanya perbedaan individu, tentang kuantitas dan kualitas semen pada kambing menjadi alasan perlunya dilakukan evaluasi semen individu kambing, untuk keperluan seleksi pejantan yang subur yang akan digunakan sebagai pemacak (Karagiannidis *et al.*, 2000).

Menurut Sandhi *et al.* (1988) data kualitas semen kambing peranakan etawah yang baru mencapai pubertas adalah sebagai berikut: volume semen 0.26 ml pH semen 7.54, spermatozoa motil/progresif sekitar 60.00%, spermatozoa hidup 67.01%, spermatozoa abnormal 8.76% dengan konsentrasi 127.83 juta sel/ml. Sedangkan menurut Suwarso (1999) pada kambing peranakan etawah dewasa, volume ejakulat kurang lebih 0.9 ml pH antara 6.6 sampai 6.8 serta konsentrasi  $2.6 \times 10^9$ /ml sampai  $2.7 \times 10^9$ /ml dengan spermatozoa hidup berkisar antara 93.5 % sampai 94.5 %. Berbeda dengan kualitas semen pada kambing nubian yang mempunyai warna putih sampai krem, volume satu ejakulas rata-rata 1.5 ml dengan konsentrasi sebesar  $1.77 \times 10^9$  spermatozoa/ml dan spermatozoa hidup yang motil sebesar 89.0% dengan abnormalitas primer 6.7% dan sekunder sebesar 15.3% (Ali dan Mustafa 1986)

Variasi karakter ejakulat diantara bangsa kambing diperlukan untuk eksploitasi genetik dan perkembangan *breed* (Gokhale *et al.*, 2002)

Penurunan fungsi spermatozoa dapat terjadi karena karakter ejakulat yang jelek, misalnya jumlah spermatozoa yang rendah pada satu ejakulat, penurunan motilitas dan bentuk morfologi yang tidak normal, adanya kelainan integritas membran spermatozoa yang mempengaruhi proses fertilisasi. Terdapat korelasi yang nyata antara motilitas spermatozoa dengan derajat integritas membran yang disebabkan oleh kerusakan ultra struktur, biokimia dan fungsi membran (Malmgren and Martinez, 1996; Soderquist *et al.*, 1997)

Untuk mendapatkan karakter ejakulat kambing yang baik, rata-rata dua kali dalam satu minggu dilakukan pengambilan semen. Kambing jantan yang dimasukkan dalam kandang, perlu dilakukan kontrol terhadap kondisi lingkungan. Pemberian makanan dilakukan *ad libitum*, masing-masing dua kali dalam sehari pagi dan sore hari (Oyeyemi *et al.*, 2001 dan Kelso *et al.*, 1997). Ada tiga macam metode yang dapat digunakan dalam melakukan penampungan semen pada kambing, yakni vagina buatan, elektroejakulator dan pengambilan semen dari vagina. Metode yang paling sering digunakan adalah menggunakan vagina buatan. Semen ditampung secara rutin melalui vagina buatan setelah satu jam terekspos betina brahi (Hafez, 1993).

Stimulasi betina pada kambing jantan selama pengumpulan semen dapat meningkatkan libido pejantan dan karakter ejakulat yang dihasilkan dari kambing jantan yang matang secara seksual. Perubahan rangsangan kambing jantan setelah dua jam terekspos betina brahi, memacu aktivitas seksual dan meningkatkan pengeluaran sperma. Sementara kehadiran dua kambing betina



birahi secara bersama-sama di sekitar kambing jantan yang akan diambil semennya, dapat menurunkan jumlah performan puncak semen yang diejakulasikan (Prado *et al.*, 2002 dan Prado *et al.*, 2003 )

### 2.3 Komponen Semen

Semen kambing pada umumnya terdiri dari dua bagian besar yaitu plasma semen dan spermatozoa. Plasma semen merupakan cairan yang disekresikan terutama oleh kelenjar vesikula seminalis dan kelenjar aksesoris lainnya. Spermatozoa berasal dari tubulus seminiferus dari testis dimana setelah melalui epididimis akan bercampur dengan cairan epididimis, sedangkan dalam ampula dan vas deferens akan bercampur dengan cairan aksesoris membentuk semen (Hardjopranto, 1988)

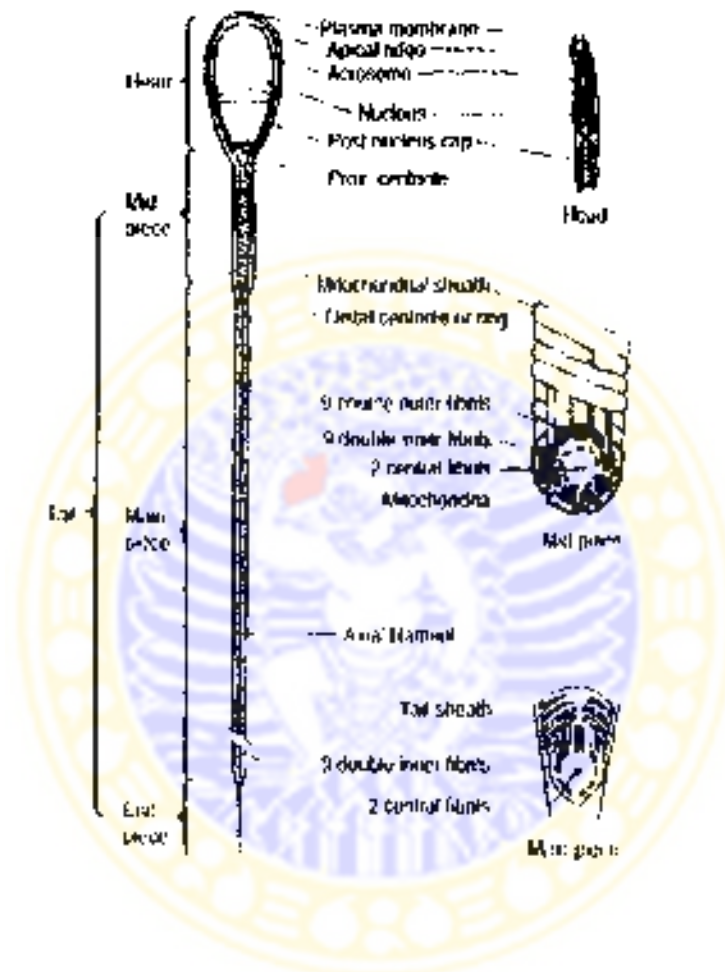
Menurut Evans *and* Maxwell (1987), fungsi plasma semen adalah sebagai medium peralihan pergerakan spermatozoa dari lingkungan saluran reproduksi jantan ke saluran reproduksi betina selama ejakulasi, sebagai medium aktivasi bagi spermatozoa yang tidak motil dan menyediakan penyangga serta kaya akan makanan yang penting untuk hidup spermatozoa setelah deposisi ke saluran reproduksi betina. Plasma semen kambing berwarna kuning yang disebabkan karena sekresi riboflavin dari kelenjar vesikula seminalis. Plasma semen berdasarkan komposisinya terbesar adalah air (sekitar 75%), merupakan cairan netral pada kondisi isotonik serta berisi bahan organik dan anorganik sebagai cadangan makanan dan perlindungan spermatozoa. Cairan isotonik plasma semen terutama mengandung bahan organik yang terdiri dari fruktosa, sorbitol, inositol, asam sitrat, gliserilfosforilkolin, fosfolipid, prostaglandin dan protein-

Fruktosa merupakan sumber energi terbesar untuk pergerakan spermatozoa dalam semen. Derajat keasaman (pH) dari plasma semen berkisar antara 6,8 sampai 7,0 yang dipertahankan oleh sistem penyangga (buffer) yang ada. Sementara La Falci *et al.*, (2002) menjelaskan bahwa protein di dalam plasma semen kambing berada di bawah pengaruh musim dan berhubungan dengan fungsi spermatozoa selama musim kawin.

Ali dan Mustafa (1986) menerangkan bahwa komponen biokimia pada semen kambing, terdiri dari : 1) konsentrasi testosteron plasma sekitar  $1.337 \pm 335$  pg/ml ; 2) aktivitas alkalin fosfatase seminal sekitar  $2.180 \pm 165$  U/100 ml ; 3) konsentrasi fruktosa plasma semen sekitar  $213,5 \pm 35,6$  mg/100 ml ; 4) konsentrasi asam sitrat sekitar  $68,8 \pm 12,2$  mg/100 ml.

Spermatozoa merupakan sel benih jantan yang berkembang dan tumbuh di dalam tubulus seminiferus dari testis melalui proses spermatogenesis. Secara ultrastruktur, spermatozoa kambing sama dengan mamalia lainnya, yaitu terdiri dari kepala yang berisi materi inti dan ekor yang berfungsi sebagai sarana penggerak. Bagian kepala sebagian besar terisi dengan materi inti kromatin yang terdiri dari DNA pembawa informasi genetik termasuk penentuan jenis kelamin setelah membuahi sel telur dan membentuk embrio (Hafez, 2000). Bagian anterior kepala spermatozoa terdiri dari akrosom yaitu suatu struktur berbentuk topi yang menutupi dua pertiga bagian dari anterior kepala. Akrosom banyak mengandung bahan-bahan seperti enzim akrosin, hyaluronidase, esterase, *corona penetrating enzyme* dan asam hidrolase yang berperan untuk melunakkan zona pellusida pada waktu proses pembuahan (Hardjopranto, 1983). Akrosom terdiri dari dua lapisan membran akrosom yaitu membran

akrosom luar dan akrosom dalam. Membran akrosom bagian luar bersatu dengan plasma membran, sedangkan membran akrosom bagian dalam menghilang pada waktu reaksi akrosom (Singh *et al.*, 1992).



**Gambar 2.2 Diagram Struktur Spermatozoa (Toellhere, 1985)**

Menurut Hafez (2000) bagian ekor spermatozoa merupakan bagian terpanjang terdiri dari 3 bagian yaitu ekor bagian tengah (*middle piece*), bagian utama (*principle piece*), bagian ujung ekor (*end piece*). Bagian leher merupakan penghubung bagian kepala dengan ekor bagian tengah, berisi sentriol proksimal

dengan pusat kinetik untuk mengawali koordinasi kontraksi selaput fibri yang menghasilkan gerak.

Ekor bagian tengah (*middle piece*) merupakan bagian terpenting dari keseluruhan sel spermatozoa, karena di bagian ini terletak selaput mitokondria yang merupakan pusat metabolisme yang menghasilkan energi dalam bentuk ATP untuk kehidupan dan pergerakan spermatozoa. Pada bagian ini, selubung mitokondria (*mitochondrial sheath*) mengandung beberapa enzim yang berhubungan dengan metabolisme oksidatif, seperti enzim yang memecah fruktosa menjadi energi. Sedangkan bagian utama (*principle piece*) dan bagian ujung ekor (*end piece*) merupakan bagian yang terpanjang dari spermatozoa dan berfungsi untuk menggerakkan spermatozoa maju ke depan (Toelihere, 1985)

## 2.4 Membran Spermatozoa

Menurut Thaler and Cardulo (1995) spermatozoa pada mamalia diselubungi oleh membran sel yang mempunyai struktur sangat kompleks dalam susunan mosaik yang teratur dan memiliki fungsi biologik spesifik pada permukaan sel. Hampir semua membran sel mengandung enzim dan sistem transport yang membantu mempertahankan keseimbangan pada medium intraseluler. Di samping itu membran sel spermatozoa banyak mengandung reseptor spesifik yang mengenali isyarat molekuler tertentu (hormon) atau sel lain yang memungkinkan terjadi penggabungan atau komunikasi antar sel.

Membran plasma spermatozoa tersusun dari lipid (dua lapis fosfolipid), protein, glikoprotein dan karbohidrat. Dua lapis fosfolipid merupakan struktur dasar dari membran spermatozoa yang susunannya sedemikian rupa dimana

lapisan fosfolipid hidrofobik membentuk permukaan bagian dalam dan lapisan fosfolipid hidrofilik ada di permukaan luar. Diantara dua lapisan fosfolipid hidrofilik dan hidrofobik terdapat distribusi protein globular dan fibrous. Protein-protein ini ada yang terdapat di permukaan luar, ada yang sebagian masuk ke dalam dua lapisan fosfolipid yang disebut sebagai protein integral, dan ada yang terletak di permukaan luar membran sebagai pengikat dua lapisan fosfolipid. Protein-protein ini bersifat dinamis dan bergerak bebas di antara kedua lapisan fosfolipid tersebut. Protein pada membran spermatozoa berfungsi sebagai reseptor terhadap rangsangan dari luar (eksternal) misalnya cahaya, aroma, hormon, obat-obatan dan faktor penumbuh. Sebagian besar karbohidrat yang terdapat pada membran spermatozoa terletak di luar dua lapisan fosfolipid yang disebut glikokaliks, merupakan oligosakarida yang berikatan dengan protein dan membran lipid (Darnell *et al.*, 1990). Park and Graham (1992) menyatakan bahwa protein dan fosfolipid pada membran spermatozoa berhubungan erat satu dengan lainnya, tetapi tidak berikatan secara kompleks.

Lipid merupakan komponen membran spermatozoa yang berfungsi sebagai stabilisator. Komposisi lipid pada membran spermatozoa terdiri dari kolesterol, fosfolipid, sfingomielin dan fosfatidil-etanolamin. Sedangkan komposisi fosfolipid terbesar pada membran anterior kepala adalah fosfatidilkolin dengan sedikit fosfatidil etanolamin dan sfingomielin, namun hanya sedikit mengandung fosfatidilserin dan fosfatidilinositol (Nainar *et al.*, 1990).

Nolan and Hammerstedt (1997) menyatakan bahwa membran spermatozoa mempunyai berbagai fungsi seperti eksositosis, perlekatan spermatozoa-ovum, pengangkutan substrat dan proses metabolisme dari spermatozoa. Fungsi

tersebut dilakukan oleh struktur yang secara morfologis terletak pada bagian-bagian tertentu, seperti membran bagian kepala berfungsi untuk penembusan pada ovum dalam proses fertilisasi. Membran bagian belakang akrosom (*post acrosome region*) berfungsi untuk mengadakan kontak pertama diikuti bersatunya dengan ovum pada proses fertilisasi, sedangkan membran bagian ekor mempunyai fungsi untuk mendapatkan bahan yang dipakai untuk energi spermatozoa untuk pergerakannya

## 2.5 Spermatogenesis

Menurut Yoelihere (1985), spermatozoa dibentuk di dalam testis melalui proses yang disebut spermatogenesis, tetapi mengalami pematangan lebih lanjut di dalam epididimis dimana spermatozoa disimpan sampai ejakulasi. Sel induk spermatogonia pada lamina basalis tubulus seminiferus mengadakan pembelahan mitosis menghasilkan spermatosit primer dan pembelahan meiosis menghasilkan spermatid. Selanjutnya berkembang menjadi spermatozoa yang dikeluarkan pada lumen tubulus.

Proses spermatogenesis ini meliputi fase spermatositogenesis dan fase spermiogenesis. Pada fase spermatositogenesis spermatogonia mengadakan pembelahan mitosis menjadi bentuk spermatosit, selanjutnya spermatosit mengalami pembelahan meiosis menghasilkan spermatid yang haploid. Pada fase spermiogenesis, sel spermatid mengalami perubahan struktur yang progresif dan berkembang menjadi spermatozoa (Hafez, 2000).

Pada pejection, gonosit mengalami diferensiasi menjadi bentuk spermatogonia tipe A0 sebelum pubertas. Spermatogonia tipe A1 membelah



secara progresif menjadi spermatogonia tipe A2, tipe A3 dan tipe A4. Spermatogonia tipe A4 membelah lagi menjadi bentuk spermatogonia intermedia dan kemudian menjadi bentuk spermatogonia tipe B. Selanjutnya spermatogonia tipe B membelah menjadi dua bentuk spermatosit primer. Spermatosit primer mengadakan duplikasi DNA dan perubahan inti pada pembelahan meiosis sebelum menjadi bentuk spermatosit sekunder. Selanjutnya spermatosit sekunder membelah lagi menjadi bentuk sel haploid yang dikenal sebagai spermatid. Spermatid ditransformasi menjadi spermatozoa melalui perubahan morfologi progresif yang disebut dengan spermiogenesis. Perubahan ini mengakibatkan kondensasi kromatin inti, pembentukan ekor spermatozoa dan perkembangan akrosom (Hafez 2000).

Maturasi spermatozoa di luar testis terjadi dalam perjalanan yaitu di epididimis yang menyangkut perubahan-perubahan morfologis, histokimiawi, fisiologis, biokimia, biotika dan metabolit. Dalam setiap stadium epitel seminiferus terdapat sel sertoli, yaitu sel yang besar berbentuk segitiga terbentang dari membran basalis tubulus sampai ke lumen membungkus sel-sel germinal dengan cabang-cabang sitoplasmanya. Fungsi sel sertoli melakukan koordinasi spermatogenesis dan memberikan nutrisi untuk metabolisme sel-sel germinal sebelum dilepas ke dalam lumen tubulus. Sel sertoli juga mempunyai fungsi endokrin dan fungsi fagositosis terhadap sel-sel germinal yang mengalami degenerasi. Testosteron yang dihasilkan sel Leydig pada tubulus seminiferus berperan dalam pembelahan spermatosit primer menjadi spermatosit sekunder kemudian menghasilkan spermatid yang haploid dan pada spermiogenesis

Testosteron juga berperan dalam proses maturasi spermatozoa di dalam epididimis (Hafez, 1993).

Spermatogenesis dikendalikan oleh sistem syaraf pusat melalui berbagai impuls aferen yang diintegrasikan di daerah hipofisiotropik dari hipotalamus, yang mengandung serabut-serabut dan sel syaraf yang bekerja sebagai neurotransmitter serta pengendalian hormonal. Pengendalian spermatogenesis pada testis oleh hipotalamus dan hipofisis anterior dikenal sebagai poros hipotalamus-hipofisis-testis (Toelihere, 1985 dan Hafez, 2000).

## 2.6 Senyawa Oksigen Reaktif (SOR)

Senyawa oksigen reaktif (SOR) merupakan senyawa yang sangat reaktif dan mempunyai aktivitas yang berbeda-beda. Dampak negatif senyawa tersebut timbul karena aktivitasnya, sehingga dapat merusak komponen-komponen sel yang penting untuk mempertahankan integritas dan kehidupan sel. Setiap SOR yang terbentuk dapat memulai suatu reaksi berantai yang akan terus berlanjut sampai SOR itu dihilangkan oleh SOR yang lain atau sistem antioksidannya (Wijaya, 1996).

Senyawa oksigen reaktif dapat berupa senyawa radikal oksigen dan senyawa oksidan non radikal. Menurut Halliwell and Gutteridge (1999) senyawa radikal oksigen mempunyai berbagai ragam jenis seperti superoksida, hidroksil, nitrit oksida, nitrogen dioksida, alkoksil dan peroksil. Sedangkan senyawa oksidan non radikal yang bersifat sebagai oksidan adalah oksigen singlet, hidrogen peroksida, hipoklorida, peroksinitrit dan ozon.

Umumnya reaksi reduksi-oksidasi biokimiawi melibatkan oksigen sebagai bagian dari metabolisme sel normal. Superoksida dibuat dengan menambahkan satu elektron pada molekul oksigen. Superoksida ini pada umumnya dibuat secara tidak sengaja, dimana banyak molekul dalam tubuh bereaksi langsung dengan oksigen untuk membuat superoksida (Wijaya, 1996)

Siregar (1992) menjelaskan bahwa oksigen merupakan suatu unsur yang esensial, tetapi kelebihan oksigen dapat menyebabkan kerusakan peroksidatif. Oksigen yang masuk ke dalam tubuh sebagian besar menuju ke mitokondria. Pada saat proses respirasi pada mitokondria, oksigen terlibat dalam pembentukan ATP dengan mengikutsertakan enzim-enzim respirasi. Dalam proses respirasi, oksigen mengalami reduksi dalam rangkaian transport elektron di dalam mitokondria. Proses reduksi oksigen tersebut dapat menghasilkan anion superoksida dan hidrogen peroksida sebagai zat antara.

Menurut Hammerstedt (1993), metabolisme sel menggunakan oksigen sebagai akseptor elektron dalam suatu proses yang menggunakan elektron bebas. Metabolisme yang berhubungan dengan respirasi untuk menghasilkan ATP dibutuhkan untuk memenuhi keperluan bioenergetik. Reaksi antara elektron bebas dengan oksigen menghasilkan anion superoksida. Jika anion superoksida didegradasi oleh superoksida dismutase ditambah peroksidase, kerusakan membran tidak akan terjadi. Katalase juga dapat menghilangkan keracunan akibat hasil sampingan hidrogen peroksida.

Halliwell and Gutteridge (1999) menjelaskan bahwa anion superoksida dapat terbentuk pada berbagai proses biologis seperti reduksi oksigen, aktivitas enzim NADPH oksidase, sitokrom-P450 dan xantin oksidase. Anion superoksida

merupakan senyawa yang dapat menjadi sumber terbentuknya senyawa radikal oksigen dan senyawa oksidan non radikal yang lain. Lass *et al* (1997) menyatakan bahwa produksi anion superoksida di dalam mitokondria diketahui mempunyai hubungan negatif (terbalik) dengan kemampuan hidup sel secara maksimum pada mamalia yang berbeda

Reaksi anion superoksida dengan SOR yang lain di lingkungan membran menghasilkan kerusakan membran yang tidak dapat dipulihkan seperti semula (*irreversible*). Reaksi SOR ini bersifat autokatalitik, sekali dimulai beberapa ikatan ganda karbon-karbon yang rentan akhirnya menjadi rusak (Hammerstedt, 1993).

Hidrogen peroksida dapat terbentuk dari berbagai proses, seperti proses dismutasi dari anion superoksida dan aktivitas enzim di organel peroksisom. Hidrogen peroksida dapat membentuk radikal hidroksil bila bertemu ion  $Fe^{2+}$  (reaksi Fenton) maupun radikal superoksida (reaksi Haber Weiss). Hidrogen peroksida dapat menembus membran sehingga dampak pengaruhnya tersebar luas (Halliwell and Gutteridge, 1999).

## 2.7 Sistem Antioksidan

Beberapa definisi antioksidan telah dikemukakan oleh beberapa peneliti. Secara umum dapat dikatakan bahwa antioksidan adalah suatu senyawa kimia atau substrat yang menghambat oksidasi (Krinsky, 1992), sedangkan Halliwell and Gutteridge (1999) mendefinisikan antioksidan sebagai substrat yang pada konsentrasi rendah bila dihadapkan pada substrat yang dapat dioksidasi, dapat menunda atau menghambat oksidasi substrat tersebut Krinsky (1992)

mengusulkan definisi yang lebih lengkap mengenai antioksidan yaitu bahwa antioksidan adalah suatu senyawa yang dapat melindungi sistem biologi bila menghadapi pengaruh yang berpotensi merusak pada suatu proses yang dapat menyebabkan oksidasi yang lebih besar. Menurut Hammerstedt (1993), antioksidan adalah senyawa nukleofilik yang mempunyai kemampuan mereduksi, memadamkan atau menekan reaksi radikal bebas.

Pada keadaan normal, aktivitas SOR yang terdapat di dalam tubuh dapat dikendalikan oleh sistem antioksidan, sehingga tidak mengganggu fungsi dan proses normal dari tubuh. Apabila keseimbangan antara jumlah SOR dan sistem antioksidan tubuh tidak baik maka proses menetralkan aktivitas SOR menjadi kurang sehingga dapat terjadi keadaan stres oksidatif, yakni reaksi antara SOR dengan molekul dalam sel tubuh sehingga sel tubuh dapat mengalami perubahan struktur dan fungsinya. Diantara molekul dalam sel tubuh yang dapat mengalami stres oksidatif adalah lemak, protein dan DNA (Halliwell, 1991).

Secara alam, sistem antioksidan untuk memberikan perlindungan terhadap serangan SOR yang terdapat di dalam tubuh. Antioksidan ini terdiri dari berbagai macam jenis, baik intraseluler, ekstraseluler maupun dari makanan (Wijaya, 1996). Menurut Halliwell (1991), aktivitas antioksidan di dalam tubuh merupakan suatu kesatuan sistem yang saling terkait dan saling mempengaruhi, misalnya kerjasama antara superoksida dismutase, katalase dan glutathion peroksidase. Kekurangan salah satu komponen dapat menyebabkan terjadinya penurunan status antioksidan secara menyeluruh dan mengakibatkan perlindungan terhadap serangan SOR menjadi melemah.

Wijaya (1996) menyatakan bahwa terdapat tiga kelompok antioksidan dalam tubuh untuk melindungi jaringan dari efek negatif SOR. Kelompok antioksidan primer bekerja dengan cara mencegah pembentukan SOR yang baru. Antioksidan ini merubah SOR yang ada menjadi molekul yang kurang mempunyai dampak negatif, sebelum SOR tersebut mempunyai kesempatan untuk bereaksi, atau dengan mencegah pembentukan SOR yang baru dari molekul lain. Antioksidan yang termasuk dalam kelompok ini adalah superoksida dismutase, katalase, glutathion peroksidase dan protein pengikat metal (ferritin dan ceruloplasmin). Kelompok antioksidan sekunder, bertindak meredam SOR dan mencegah terjadinya reaksi berantai. Antioksidan kelompok ini adalah vitamin E, vitamin C,  $\beta$ -karoten, asam urat, bilirubin dan albumin. Kelompok antioksidan tersier, berfungsi memperbaiki kerusakan biomolekuler yang disebabkan oleh SOR seperti enzim-enzim yang memperbaiki DNA dan metionin sulfoksida reduktase.

Biswas *et al* (1995) menjelaskan bahwa SOR diserang oleh enzim superoksida dismutase, peroksidase dan katalase dalam suatu sistem antioksidan yang secara heterogen terdistribusi dalam sel. Aktivitas superoksida dismutase dan katalase terutama terletak dalam fraksi sitosolik dibandingkan dengan fraksi mitokondrial dan fraksi mikrosomal. Sedangkan aktivitas peroksidase tertinggi diamati pada fraksi mikrosomal dengan aktivitas kecil pada sitosolik dan fraksi mitokondria.

Menurut Gangadharan *et al*. (2001) induksi stres oksidatif pada spermatozoa kambing dapat menurunkan aktivitas antioksidan, yang meliputi superoksida dismutase, katalase, glutathion peroksidase dan glutathion reduktase.

Su *et al.* (2002) menyatakan bahwa meningkatnya stres oksidatif dalam infiltrasi neutrofil berhubungan dengan defisiensi aktivitas enzim antioksidan.

### 2.7.1 Superoksida Dismutase (SOD)

Superoksida dismutase (SOD) merupakan enzim yang berada di dalam semua sel tubuh yang berfungsi mengkatalisis perubahan anion superoksida (metabolit toksik dari reaksi biologi normal yang mengurangi oksigen) menjadi oksigen dan hidrogen peroksida.

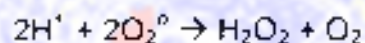
Menurut Fridovich (1986), SOD merupakan enzim yang memberikan perlindungan terhadap toksisitas oksigen dan dapat diisolasi dari berbagai bentuk kehidupan. Wijaya (1996) menjelaskan bahwa SOD terdapat dalam sitosol dan mitokondria, enzim ini akan merubah superoksida menjadi hidrogen peroksida. Selanjutnya hidrogen peroksida akan dihilangkan oleh enzim katalase dan glutathion peroksidase.

SOD bersifat sebagai *scavenger* radikal superoksida, yang memainkan peranan penting dalam pertahanan sel (Liochev and Fridovich, 1991). SOD memberikan perlindungan terhadap serangan SOR dan meningkatkan toleransi sel terhadap stres oksidatif (Scott *et al.*, 1986). Menurut Fridovich (1986), anion superoksida merupakan ancaman bagi kehidupan sel. SOD memberikan perlawanan terhadap serangan anion superoksida dan didapatkan pada semua organisme.

Enzim SOD menyediakan garis pertahanan pertama melawan toksisitas oksigen. Aktivitas dan teknik pemeriksaan dihubungkan dengan bermacam-macam bidang seperti kesehatan, biokimia, fisiologi dan kimiawi. SOD

merupakan enzim yang mengkatalisis reaksi dismutasi dua anion superoksida menjadi hidrogen peroksida dan molekul oksigen. SOD merupakan enzim yang berperan penting dalam garis depan pertahanan melawan stres oksidatif (Ukeda, 2000)

SOD memberikan perlindungan melalui mekanisme pertahanan di bagian ruangan seluler melawan potensi sitotoksitas anion superoksida (Carraro and Pathak, 1988). Superoksida dismutase merupakan kelompok isozim yang berfungsi sebagai *scavenger* radikal superoksida di dalam organisme hidup. Adapun reaksi SOD yang terjadi, sebagai berikut .



Produksi hidrogen peroksida ini selanjutnya dinetralkan oleh katalase atau peroksidase (Chen and Pan, 1996).

SOD merupakan enzim yang penting dalam kehidupan sel untuk mempertahankan kondisi fisiologis normal dan menangkal stres oksidatif (Chen and Pan, 1996). Perbedaan aktivitas SOD spesifik (Unit/mg prot) dan total (Unit/mg jaringan) telah diamati pada folikel yang mempunyai ukuran berbeda dari ruminansia (Singh *et al* , 1998).

Aktivitas SOD diuji dengan menggunakan spektrofotometer, metode ini pertama kali diperkenalkan oleh McCord and Fridovich (1969) dan dimodifikasi oleh Oberley and Spitz (1985). Selanjutnya teknik konvensional untuk menguji aktivitas SOD ini dikembangkan melalui kombinasi elektroforesis dan densitometer oleh Chen and Pan (1996). Variasi metode deteksi SOD sudah



berkembang, namun tidak ada metode memuaskan yang tersedia berdasarkan selektifitas, kecepatan, sederhana dan mempunyai aplikasi yang luas.

Aktivitas SOD yang diukur dengan metode spektrofotometer ini sudah digunakan lebih dari 20 tahun, sejak pertama kali diperkenalkan oleh Mc Cord and Fridovich pada tahun 1969. Satu unit aktivitas SOD didefinisikan sebagai jumlah SOD yang dihasilkan melalui kompetisi dengan NBT (*nitro blue tetrazolium*) 50% dalam sistem spesifik (Chen and Pan, 1996). Sedangkan menurut Kelso *et al.* (1997), satu unit aktivitas SOD didefinisikan sebagai jumlah SOD yang diperlukan untuk menghambat penilaian formasi bahan celup formazan 50% dibawah kondisi spesifik.

Karena radikal superoksida bersifat tidak stabil, sulit menentukan aktivitas SOD berdasarkan konsentrasi dinamik dari substrat. Demikian juga tidak mungkin menentukan aktivitas SOD berdasarkan tingkat produksi, karena hidrogen peroksida tidak stabil dengan kehadiran ion metal. Katalase dan peroksidase yang ada dalam ekstrak kasar juga dapat mengganggu hasil pemeriksaan (Chen and Pan, 1996).

Pada metode spektrofotometer, xantin oksidase dan xantin digunakan untuk menghasilkan anion superoksida yang berubah-ubah terus menerus, sementara sitokrom c berfungsi sebagai kompetitor SOD melawan anion superoksida dan sebagai indikator warna. Sitokrom c selanjutnya diganti dengan NBT karena hasilnya dapat diganggu oleh beberapa enzim seperti sitokrom oksidase dan sitokrom peroksidase yang ada di dalam ekstrak kasar (Fridovich, 1986). NBT dan SOD di dalam sel berlomba untuk melawan anion superoksida dalam waktu yang sama (Chen and Pan, 1996).

Menurut Ukeda (2000) metode deteksi SOD terbaik didasarkan pada deteksi spektrofotometer. Metode ini menggunakan sitokrom c atau NBT. Deteksi anion superoksida melalui sitokrom c menghasilkan suatu metode yang didasarkan pada perubahan warna menjadi ungu. Metode NBT didasarkan pada perubahan warna biru formazan dengan panjang gelombang maksimum 560 nm, melalui reaksi dengan anion superoksida. Anion superoksida yang dihasilkan oleh reaksi xantin dan xantin oksidase secara spontan ditransformasi menjadi oksigen dan hidrogen peroksida. Reaksi dismutasi terjadi secara spontan dan cepat pada pH fisiologis (pH 7-8).

Aktivitas SOD total dari sampel yang belum diketahui diukur melalui interpolasi dengan membaca kurva standar baku SOD, yang aktivitasnya diukur menggunakan metode spektrofotometer. Sedangkan teknik untuk menguji aktivitas SOD tunggal isoform menggunakan *polyacrylamide gel*, dapat menghilangkan gangguan yang bukan berasal dari molekul SOD di dalam ekstrak kasar, yang tidak dapat dihilangkan menggunakan metode spektrofotometer (Chen and Pan, 1996).

Lehninger (1995) menjelaskan bahwa aktivitas spesifik adalah ukuran kemurnian enzim yang didefinisikan sebagai jumlah unit enzim per miligram protein. Kadar protein pada setiap fraksi pemurnian tergantung pada pemisahan enzim sehingga apabila aktivitas enzim dibagi dengan kadar proteinnya akan diketahui kemurnian enzimnya. Pada masing-masing fraksi pemurnian, kadar protein enzim ditentukan dengan menggunakan metode Biuret. Metode Biuret didasarkan atas pembentukan kompleks yang berwarna ungu. Komplek ini terbentuk apabila suatu peptida atau protein yang terdiri dari dua ikatan peptida

atau lebih bereaksi dengan  $\text{CuSO}_4$  dan  $\text{NaOH}$ . Warna yang timbul disebabkan karena kompleks ion  $\text{Cu}^{2+}$  dengan empat atom nitrogen yang berasal dari empat cincin peptida

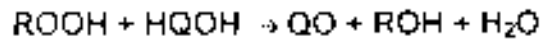
Preparasi sampel untuk menguji aktivitas SOD disimpan dalam nitrogen cair. Sampel disentrifugasi pada suhu  $4^\circ\text{C}$ ,  $14k \times g$  selama 10 menit. Sentrifugas diulang 2-3 kali untuk membersihkan semua runtuhan. Supernatan kemudian dipindahkan ke dalam tabung mikro, disimpan pada suhu  $-20^\circ\text{C}$  atau nitrogen cair dan disentrifugasi kembali setelah didinginkan sebelum digunakan (Chen and Pan, 1996)

### 2.7.2 Katalase

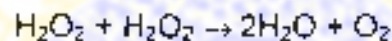
Katalase merupakan salah satu enzim antioksidan yang bekerja melawan kehadiran SOR. Wijaya (1996) menjelaskan bahwa katalase terdapat dalam sitosol dan mitokondria, enzim ini akan merubah hidrogen peroksida menjadi oksigen dan air. Menurut Biswas *et al.* (1995), aktivitas katalase terutama terletak dalam fraksi sitosolik dibandingkan dengan fraksi mitokondrial dan fraksi mikrosomal.

Katalase mencegah aktivitas hidrogen peroksida (Miesel *et al.*, 1997) dapat dijumpa pada spermatozoa dan plasma semen. Sistem ini mempunyai aktivitas secara langsung sebagai antioksidan dan menghambat peroksidasi lipid (Dandekar *et al.*, 2002). Dalam beberapa kasus, suplementasi katalase dapat membenkan kontribusi besar untuk mencegah peroksidasi lipid membran spermatozoa oleh SOR (Tiziana *et al.*, 2001)

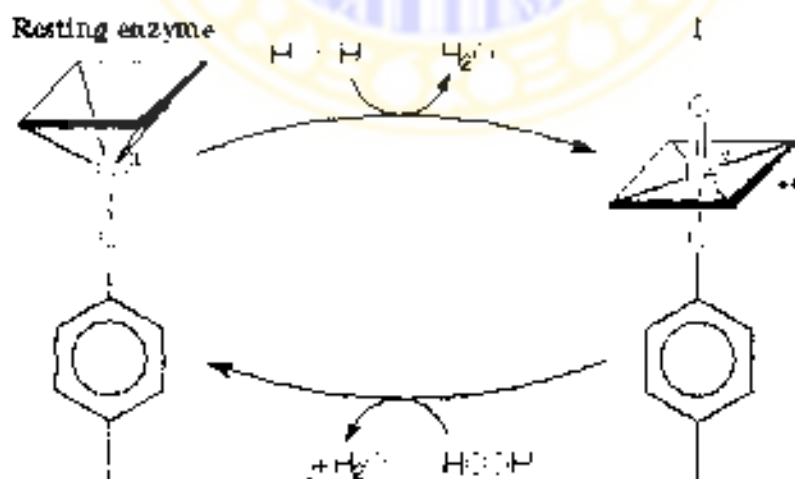
Enzim katalase juga dikenal sebagai enzim hidrogen peroksida oksidoreduktase. Adapun reaksi katalisis yang terjadi dengan melibatkan enzim katalase ini, adalah sebagai berikut :



R adalah hidrogen atau kelompok alkil atau asil. HQOH adalah donor dua elektron. Katalase dapat digunakan untuk mendegradasi hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) sebagai aseptor elektron dan donor elektron (aktivitas katalitik) menjadi molekul oksigen ( $\text{O}_2$ ) and air dalam reaksi .



Siklus reaksi katalase dimulai dengan meningkatnya keberadaan ion ferri ( $\text{Fe}^3$ ) yang bereaksi dengan molekul peroksida menjadi bentuk senyawa I intermedia, porfirin, radikal mengandung  $\text{Fe}^{\text{IV}}$ . Selanjutnya oksidasi dari donor elektron mengakibatkan senyawa I kembali pada keadaan istirahat semula



**Gambar 2.3** Siklus reaksi yang menunjukkan katalase dalam keadaan istirahat dan senyawa I netral (Andersson and Dawson, 1991).

Enzim katalase merupakan tetramer, yang mempunyai 222 molekul simetris. Masing-masing monomer merupakan  $\alpha/\beta$  protein, yang mengandung dua domains yakni  $\beta$  barrel and  $\alpha$  domain (Andersson and Dawson, 1991).

Aktivitas katalase dapat diestimasi dengan menggunakan metode Aebi (1984) Degradasi hidrogen peroksida diukur secara langsung berdasarkan absorbansinya pada 240 nm. Hidrogen peroksida diencerkan dengan buffer fosfat dengan pH 7,0 dan densitas optik awal diatur antara 0.5 sampai 0.6 unit absorbansi pada 240 nm. Selanjutnya penurunan absorbansi diukur, satu unit aktivitas katalase didefinisikan sebagai jumlah katalase yang diabsorpsi dalam 30 detik pada 25°C. Aktivitas katalase dikalkulasi dari perubahan absorbansi dan dapat dinyatakan dalam Unit/mg protein (Dandekar *et al.*, 2002).

## 2.8 Stres Oksidatif

Pada keadaan normal terdapat keseimbangan antara pembentukan SOR dengan sistem antioksidan. Aktivitas SOR dapat dikendalikan oleh sistem antioksidan sehingga tidak sampai mengganggu kelangsungan proses biologis, bahkan sebagian proses biologis berlangsung dengan menggunakan senyawa radikal sebagai mediator. Stres oksidatif terjadi bila keseimbangan terganggu dimana jumlah SOR sangat meningkat atau kapasitas sistem antioksidan tubuh sangat menurun, yang mengakibatkan reaksi patologis antara SOR dengan molekul biologis sehingga struktur dan fungsinya dapat berubah (Halliwell and Gutteridge, 1999).

### 2.8.1 Peroksidasi Lipid

Lipid adalah asam lemak tidak jenuh yang merupakan komponen utama dari membran sel. Peroksidasi lipid adalah reaksi autokatalitik yang mengakibatkan dekomposisi lipid membran, sebagian besar menghasilkan aldehid, epoksid, peroksid, keton dan senyawa karbonil lainnya (Hruszkewycz, 1992)

Membran plasma spermatozoa kaya akan asam lemak tak jenuh dan oleh karena itu rentan terhadap kerusakan peroksidasi (Jones et al. 1993 ; Maxwell and Watson, 1996) SOR bersifat sangat reaktif, jika bereaksi dengan asam lemak tak jenuh akan menghasilkan peroksida lipid. Reaksi ini terjadi secara berantai dan terus menerus karena menghasilkan SOR lain yang mengakibatkan peroksidasi lebih lanjut. Peroksidasi lipid yang berkepanjangan merusak struktur matrik lipid, menyebabkan instabilitas pada membran. Kerusakan minimal mengubah viskositas membran dan merangsang aktivitas *fosfolipase A<sub>2</sub>*, sehingga spermatozoa tidak dapat melakukan biosintesis untuk memperbaiki kerusakan dan mengakibatkan gangguan fungsi spermatozoa (Siregar, 1992).

Peroksidasi lipid secara menyeluruh sulit dihambat karena proses metabolismenya sama-sama berhubungan dengan jalur metabolik yang esensial (Hammerstedt 1993). Proses peroksidasi dapat merubah struktur spermatozoa terutama pada bagian akrosom, akibatnya spermatozoa dapat kehilangan motilitas, terjadi perubahan metabolisme yang cepat dan pelepasan komponen intraseluler. Membran plasma dan akrosom lebih sensitif dalam menghadapi peroksidasi daripada inti dan bagian tengah spermatozoa. Ditinjau dari kepekaan

akrosom, membran luar lebih sensitif daripada membran bagian dalam dari akrosom (Salamon *and* Maxwell, 1995).

Peroksidasi lipid dapat terjadi pada spermatozoa segar maupun yang telah disimpan lama, dan menurunkan daya tahan spermatozoa sehingga dapat mempengaruhi proses fertilisasi pada IB (Alvarez *and* Storey, 1982).

Peroksidasi lipid dapat menghasilkan berbagai senyawa seperti hidroksi nonenal hidrokarbon (etana, pentana), isoprosolan dan malondialdehid (MDA). Peroksidasi lipid dapat menurunkan fungsi spermatozoa, MDA sebagai hasil akhir peroksidasi lipid mempunyai korelasi negatif dengan motilitas spermatozoa (Aitken *et al.*, 1994).

### 2.8.2 Peroksidasi Protein

Protein adalah suatu makro molekul penyusun membran sel. Secara umum molekul protein dapat mengalami hidrolisis secara enzimatis dengan protease. Kejadian ini dapat dijelaskan dengan oksidasi protein intraseluler, dimana adanya SOR akan menghasilkan protein hidroperoksida. Reduksi ikatan protein terjadi karena adanya oksidasi oleh radikal hidroksil. Sebagian besar dari aktivitas reduksi yang dihasilkan oleh oksidasi SOR, seperti ikatan protein-DOPA dapat berubah menjadi quinon. Akumulasi kerusakan protein dapat menyebabkan proses penuaan dan penyakit. Kerusakan protein oleh SOR dapat menyebabkan lepasnya untai ganda DNA (Dean *et al.*, 1992).

Dampak peroksidasi protein terhadap fungsi fisiologis sel bersifat sangat luas dan terjadi secara primer atau sekunder. Dampak primer terjadi sebagai akibat gangguan langsung dari kerusakan protein fungsional tubuh seperti

enzim, reseptor, sistem transpor ion dan sitoskeleton. Dampak sekunder pada protein antara lain perubahan sifat protein misalnya protein teroksidasi dapat bersifat antigenik, serta lebih mudah atau lebih sukar didegradasi. Gangguan fungsi enzim dapat mengganggu proses metabolisme dan pembentukan ATP serta menghambat perbaikan molekul teroksidasi, sedangkan kerusakan protein sitoskeleton dapat mengganggu integritas membran sel (Halliwell *and* Gutteridge, 1999).

### 2.8.3 Peroksidasi DNA

DNA disusun oleh nukleotida adenin, timin, guanin dan sitosin. DNA terdapat di inti dan mitokondria. Adanya radikal bebas yang bersifat oksidator akan mengoksidasi DNA dan menyebabkan nukleotida guanin yang rawan terhadap oksidasi menghasilkan 8-hidroksi-dioksiguanosin (8-OH-dG), sehingga 8-OH-dG dapat digunakan sebagai indikator adanya kerusakan. Mutasi DNA mitokondria terjadi bila terdapat akumulasi dari 8-OH-dG, akumulasi kerusakan DNA mitokondria dapat mengakibatkan penuaan melalui mekanisme reaksi reduksi-oksidasi. SOR dapat menyebabkan kerusakan DNA mitokondria, dan bila terjadi peningkatan mutasi DNA mitokondria dapat mengakibatkan menurunnya bioenergi sel (Ozawa, 1995).

Dampak peroksidasi DNA dapat terjadi secara langsung akibat kerusakan molekul DNA dan secara tidak langsung akibat meningkatnya aktivitas enzim pemecah maupun perbaikan DNA. Kerusakan molekul DNA dapat mengakibatkan gangguan fungsi replikasi dan transkripsi. Bila jumlah DNA yang rusak sangat banyak maka akan terjadi peningkatan aktivitas enzim perbaikan



**DNA. Aktivitas yang tinggi dapat menguras cadangan  $\text{NAD}^+$  yang juga diperlukan untuk proses pembentukan ATP, sehingga pembuatan ATP dapat terganggu atau terhenti. Gangguan proses pembentukan ATP dapat mengganggu fungsi dan kematian sel (Halliwell and Gutteridge, 1999).**



## BAB 3

### KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

#### 3.1 Kerangka Konseptual

Karakter ejakulat kambing dipengaruhi oleh bermacam-macam faktor, diantaranya umur dan bangsa kambing. Perbedaan karakter ejakulat ini dapat ditinjau melalui pendekatan biokimia yang berhubungan dengan aktivitas SOD dan katalase dalam suatu sistem antioksidan yang bekerja melawan serangan SOR.

Radikal bebas terlibat dalam berbagai proses biologis, sebagian besar berasal dari proses biologis alami yang melibatkan SOR termasuk radikal bebas oksigen. Senyawa tersebut terbentuk dari oksigen yang diperlukan spermatozoa untuk menghasilkan energi atau adenosin trifosfat (ATP) melalui proses fosforilasi oksidatif di dalam mitokondria (Jones *et al.*, 1993).

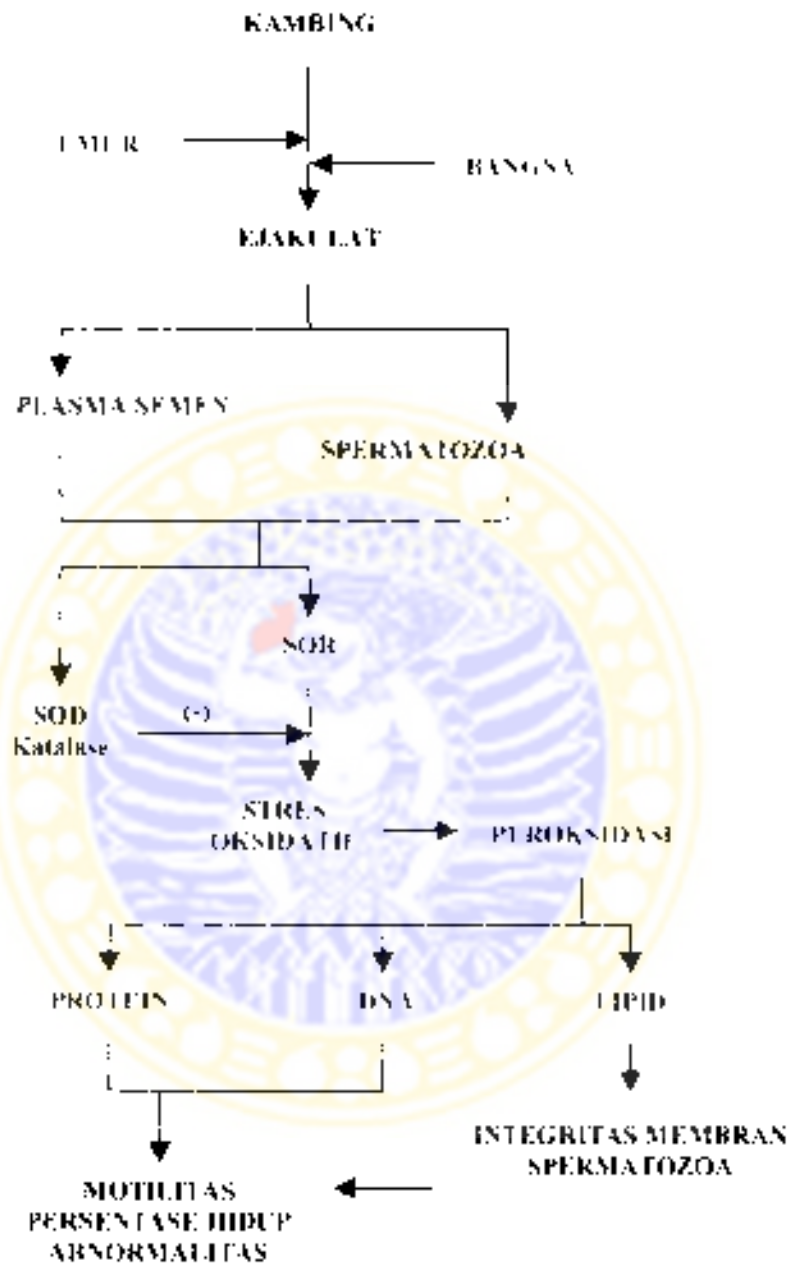
SOD dan katalase dihasilkan spermatozoa dan terdapat di dalam plasma semen, secara alami sangat efisien melindungi spermatozoa dari serangan SOR melalui suatu sistem antioksidan. Menurut Liochev and Fridovich (1991), pelepasan SOD dan katalase sebagai scavenger SOR, memainkan peranan penting dalam pertahanan sel. SOD dan katalase memproteksi kerugian oksidan dan meningkatkan toleransi terhadap stres oksidatif.

Dalam keadaan normal SOR diperlukan untuk merangsang hiperaktivasi dan kapasitas spermatozoa, namun dalam konsentrasi tinggi dan tidak mampu diredam oleh antioksidan yang ada pada plasma semen akan menimbulkan stres oksidatif. Stres oksidatif mengakibatkan terjadinya peroksidasi lipid, protein dan

DNA. Peroksidasi lipid mengakibatkan kerusakan asam lemak tidak jenuh jamak yang merupakan komponen utama membran sel spermatozoa. Peroksidasi protein mengakibatkan kerusakan enzim, reseptor, sistem transport ion dan siloskeleton membran sel spermatozoa. Peroksidasi DNA mengakibatkan kerusakan DNA yang menyebabkan kebutuhan ATP menjadi terganggu. Selanjutnya penurunan integritas membran spermatozoa menjadi penyebab utama menurunnya berbagai indikator kualitas semen (Flaherty *et al.*, 1999 ; De Lamirande *et al.*, 1997 ; Wijaya, 1996).

Secara fisiologis, meningkatnya umur kambing dapat menurunkan kemampuan spermatogenesis dari testis, sehingga spermatozoa yang dihasilkan berkurang dan akan diikuti dengan menurunnya sintesis SOD dan katalase. Sementara itu, produksi SOR melalui metabolisme spermatozoa semakin meningkat tanpa diimbangi dengan meningkatnya aktivitas antioksidan, sehingga terjadi stres oksidatif yang berakibat meningkatnya peroksidasi lipid, protein dan DNA. Efek peroksidasi mengakibatkan menurunnya integritas membran spermatozoa yang berpengaruh terhadap motilitas, persentase hidup dan abnormalitas spermatozoa

Karakteristik berbagai bangsa kambing merupakan faktor utama yang membedakan kuantitas semen (volume semen dan konsentrasi spermatozoa), kualitas semen (motilitas, persentase hidup, abnormalitas dan integritas membran spermatozoa), aktivitas SOD dan katalase antara kambing kacang dan kambing peranakan etawah.



Keterangan

SOD Superoksida Dismutase  
 SOR Senyawa Oksigen Reaktif

**Gambar 3.1 Skematis Kerangka Konseptual Penelitian**

### 3.2 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah, kajian teori dan kerangka konseptual, hipotesis penelitian yang diajukan adalah

1. Pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah, volume semen dan abnormalitas spermatozoa meningkat, tetapi konsentrasi, motilitas, persentase hidup dan integritas membran spermatozoa menurun seiring dengan bertambahnya umur kambing
2. Pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah aktivitas SOD dan katalase menurun seiring dengan bertambahnya umur kambing.
3. Kambing kacang menghasilkan semen segar dengan volume, konsentrasi, motilitas, persentase hidup, abnormalitas integritas membran spermatozoa, aktivitas SOD dan katalase lebih rendah dibandingkan kambing peranakan etawah, baik pada umur muda, sedang maupun tua
4. Aktivitas SOD berpengaruh positif terhadap integritas membran spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah
5. Aktivitas katalase berpengaruh positif terhadap integritas membran spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah.
6. Integritas membran spermatozoa berpengaruh positif terhadap motilitas dan persentase hidup spermatozoa, tetapi berpengaruh negatif terhadap abnormalitas spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah.

## BAB 4

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, mulai tanggal 1 Maret 2003 sampai dengan 31 Oktober 2003.

#### 4.2 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian observasional analitik dan *cross sectional*, yang mengungkap perubahan karakter ejakulat dan aktivitas antioksidan pada masa reproduksi kambing umur muda, sedang dan tua, mengungkap perbedaan karakter ejakulat dan aktivitas antioksidan antara kambing kacang dan kambing peranakan etawah, serta mengungkap mekanisme perubahan karakter ejakulat melalui pendekatan aktivitas antioksidan.

#### 4.3 Populasi, Sampel dan Besar Sampel

Populasi penelitian adalah kambing kacang dan kambing peranakan etawah jantan dewasa sehat dan mempunyai libido tinggi, yang terdapat di wilayah Jawa Timur. Sampel penelitian adalah kambing kacang dan kambing peranakan etawah yang terbagi dalam tiga kelompok umur (muda, sedang dan tua) dan diperoleh dari populasi penelitian. Adapun besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini 60 ekor kambing, yang terdiri dari 30 ekor

kambing kacang dan 30 ekor kambing peranakan etawah. masing-masing terbagi dalam tiga kelompok umur, yakni 10 ekor kambing umur muda, 10 ekor kambing umur sedang dan 10 ekor kambing umur tua

Berdasarkan hasil perhitungan menggunakan rumus dari Steel and Torrie (1995), besarnya sampel yang digunakan untuk setiap kelompok pengamatan adalah minimal 8 sampel, seperti yang tampak pada perhitungan di bawah ini

$$n_i \geq \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 \sigma^2}{\delta^2}$$

$$\geq \frac{(1,96 + 0,85)^2 \cdot 1^2}{1^2}$$

$$\geq 7,9 \quad (= 8 \text{ sampel})$$

#### Keterangan

- $n_i$  = jumlah sampel untuk setiap kelompok pengamatan
- $Z_{\alpha/2}$  = nilai Z dengan peluang salah  $\alpha/2$ , yang besarnya 1,96
- $Z_{\beta}$  = nilai Z dengan peluang salah  $\beta$ , yang besarnya 0,85
- $\sigma$  = ragam beda
- $\delta$  = beda yang sebenarnya

## 4.4 Variabel Penelitian

### 4.4.1 Klasifikasi Variabel

Penelitian ini terdiri dari beberapa variabel yaitu . variabel bebas, variabel tergantung, variabel kendali dan variabel intervening

Variabel bebas adalah umur dan bangsa kambing. Variabel tergantung adalah karakter ejakulat (volume semen, konsentrasi motilitas, persentase hidup, abnormalitas dan integritas membran spermatozoa) aktivitas antioksidan (SOD dan katalase). Variabel kendali adalah pemberian pakan, pengambilan

semen dan kondisi lingkungan. Variabel intervening adalah genetik, hormon dan berat badan.

#### 4.4.2 Definisi Operasional Variabel

1. **Umur Kambing** : Umur produktif kambing yang dibedakan dalam 3 kelompok pengamatan, yakni umur muda (umur kurang dari 1.5 tahun), sedang (1.5-4.0 tahun) dan tua (lebih dari 4.0 tahun). Umur kambing ini ditentukan berdasarkan pergantian gigi seri. Umur 1.5 tahun ditandai dengan pergantian gigi seri 1, sedangkan umur 4.0 tahun ditandai dengan pergantian seluruh gigi seri (Murtidjo, 1993 dan Dwiyanto, 1994).
2. **Bangsa Kambing** : Kambing dalam penelitian ini yang dibedakan menurut bangsanya, meliputi kambing kacang dengan ciri-ciri ukuran tubuh relatif kecil, kepala kecil, telinga pendek dan tegak lurus mengarah ke atas, dan kambing peranakan etawah dengan ciri-ciri ukuran relatif besar, hidung agak melengkung, telinga agak besar dan terkulai.
3. **Volume Semen** : volume dari semen segar kambing kacang dan kambing peranakan etawah hasil ejakulasi pada kelompok kambing umur muda, sedang dan tua, yang diukur secara langsung berdasarkan ukuran yang tertera pada tabung penampungan dan dinyatakan dalam ml tiap ejakulat.
4. **Konsentrasi Spermatozoa** : Jumlah spermatozoa dalam semen segar kambing kacang dan kambing peranakan etawah hasil ejakulasi pada kelompok kambing umur muda, sedang dan tua, yang diukur menurut standart baku BIB Singosari (1997) dan dinyatakan dalam  $10^9$ /ml semen.



5. **Motilitas Spermatozoa** : Spermatozoa motil dalam semen segar kambing kacang dan kambing peranakan etawah hasil ejakulasi pada kelompok kambing umur muda, sedang dan tua, yang diukur menurut standar baku BIB Singosari (1997) dan dinyatakan dalam persen (%).
6. **Persentase Hidup Spermatozoa** : Spermatozoa hidup dalam semen segar kambing kacang dan kambing peranakan etawah hasil ejakulasi pada kelompok kambing umur muda, sedang dan tua, yang diukur menurut standar baku BIB Singosari (1997) dan dinyatakan dalam persen (%).
7. **Abnormalitas Spermatozoa** : Spermatozoa abnormal dalam semen segar kambing kacang dan kambing peranakan etawah hasil ejakulasi pada kelompok kambing umur muda, sedang dan tua, yang diukur menurut standar baku BIB Singosari (1997) dan dinyatakan dalam persen (%).
8. **Integritas Membran Spermatozoa** : Spermatozoa yang mempunyai permeabilitas membran utuh dalam semen segar kambing kacang dan kambing peranakan etawah hasil ejakulasi pada kelompok kambing umur muda, sedang dan tua, yang diamati menggunakan metode *hypoosmotic swelling test* (HOST) menurut Correa *et al.* (1996). Spermatozoa yang mempunyai permeabilitas membran utuh ditandai adanya pembengkakan kepala dan ekor melingkar, yang dinyatakan dalam persen (%).
9. **Aktivitas SOD** : Besarnya aktivitas SOD total dan spesifik dari semen kambing kacang dan kambing peranakan etawah pada kelompok kambing umur muda, sedang dan tua, yang diukur dengan menggunakan metode

Oberley and Spitz (1985) yang dimodifikasi. Aktivitas SOD total merupakan aktivitas SOD yang dinyatakan dalam Unit/ml semen, sedangkan aktivitas SOD spesifik merupakan aktivitas SOD yang dinyatakan dalam Unit/mg protein (Lehninger, 1995).

**10. Aktivitas Katalase :** Besarnya aktivitas katalase dari semen kambing kacang dan kambing peranakan etawah pada kelompok kambing umur muda, sedang dan tua, yang diukur dengan menggunakan metode Aebi (1984) yang dimodifikasi. Aktivitas katalase total merupakan aktivitas katalase yang dinyatakan dalam Unit/ml semen, sedangkan aktivitas katalase spesifik merupakan aktivitas katalase yang dinyatakan dalam Unit/mg protein (Lehninger, 1995).

#### 4.5 Materi Penelitian

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 60 ekor kambing jantan yang terdiri dari 30 ekor kambing kacang dan 30 ekor kambing peranakan etawah, masing-masing terbagi dalam tiga kelompok umur (muda, sedang dan tua), yang mempunyai keadaan fisik normal dan sehat, libido tinggi serta berat badan antara 20 kg sampai 30 kg pada kambing kacang dan 30 kg sampai 40 kg pada kambing peranakan etawah. Keadaan fisik normal dan sehat ditandai dengan tidak adanya cacat tubuh dan secara klinis menunjukkan kondisi normal. Libido tinggi diamati berdasarkan kemampuan kambing jantan menaiki kambing betina akibat rangsangan yang ditimbulkan setelah terekspos kambing betina birahi kurang dari 30 detik.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi : aquades, buffer fosfat, xanlin, xantin oksidase, NBT (*nitroblue tetrazolium*), SOD (superoksida dismutase), katalase, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (hidrogen peroksida), larutan hiposmotik, larutan eosin-negrosin, larutan eosin 1%, nitrogen cair, pakan hijauan dan konsentrat

#### 4.6 Peralatan Penelitian

Peralatan yang dipakai dalam penelitian ini meliputi : peralatan gelas (gelas beaker, labu ukur, erlenmeyer), pH meter, termometer, hematositometer dari Thoma, autoklaf, sentrifus, neraca analitik, pipet mikro eppendorf, inkubator, spektrofotometer UV-Vis Shimadzu 160-A, gelas obyek, gelas penutup, mikroskop dan kontainer.

#### 4.7 Prosedur Pengumpulan Data

##### 4.7.1 Persiapan Hewan Penelitian

Kambing kacang dan kambing peranakan etawah jantan yang akan digunakan sebagai hewan penelitian, diadaptasikan dengan lingkungan penelitian selama dua minggu. Masing-masing kambing dimasukkan ke dalam kandang individu, yang dilengkapi dengan tempat pakan dan minum. Pakan yang diberikan berupa hijauan secara *ad libitum* dan konsentrat 0.5 kg/ekor/hari. Air minum diberikan secara *ad libitum* dan setiap hari kambing penelitian diberi kesempatan *exercise* selama 1 jam/hari. Selama masa adaptasi kambing jantan dipisah atau dilarang mengadakan kontak dengan kambing betina dan dilakukan pemeriksaan kesehatan secara rutin. Pemeriksaan kesehatan dilakukan melalui

pemeriksaan fisik dan feses untuk menentukan ada tidaknya cacing dalam saluran pencernaan

#### 4.7.2 Penampungan Semen

Kambing kacang dan kambing peranakan etawah yang sudah diadaptasikan, dilakukan penampungan semen menggunakan vagina buatan. Sebelum dilakukan penampungan semen, kambing jantan dirangsang libidonya dengan menghadirkan kambing betina birahi selama 1 jam, agar menghasilkan ejakulasi yang maksimal. Semen hasil penampungan yang masih dalam keadaan segar dilakukan pemeriksaan keadaan umum semen yang meliputi warna, konsistensi, gerakan massa dan derajat keasaman. Selanjutnya semen dibagi dalam dua bagian, bagian pertama digunakan untuk pemeriksaan karakter ejakulat sedangkan bagian kedua digunakan untuk pemeriksaan aktivitas SOD dan kalalase yang disimpan di dalam nitrogen cair yang mempunyai suhu  $-196^{\circ}\text{C}$  sebelum digunakan.

#### 4.7.3 Pemeriksaan Karakter Ejakulat

Pemeriksaan karakter ejakulat yang dilakukan meliputi volume semen, konsentrasi, motilitas, persentase hidup, abnormalitas dan integritas membran spermatozoa.

#### Volume Semen

Pemeriksaan volume semen dilakukan secara langsung pada semen segar hasil penampungan, yang dibaca berdasarkan ukuran yang tertera pada tabung penampungan dan dinyalakan dalam ml tiap ejakulat.

### **Konsentrasi Spermatozoa**

Pemeriksaan konsentrasi spermatozoa dilakukan menurut standart baku BIB Singosari (1997). Konsentrasi spermatozoa dideterminasi menggunakan hematositometer dari Thoma setelah diencerkan dalam larutan eosin 1%. Semen dihisap ke dalam pipet pengencer dari Thoma (pipet eritrosit) sampai tanda "0.5", dan larutan eosin 1% dihisap sampai mencapai tanda "101". Kedua ujung pipet ditutup dengan ibu jari dan jari tengah, lalu dikocok dengan gerakan tegak lurus pada sumbu panjangnya. Semen yang telah diencerkan, dimasukkan ke dalam kamar penghitung dengan menempatkan ujung pipet pada tepi gelas penutup. Selanjutnya dengan menggunakan mikroskop, dilakukan penghitungan jumlah spermatozoa yang tampak dalam kamar penghitung sesuai prosedur yang telah ditentukan dan konsentrasi spermatozoa dinyatakan dalam  $10^9$ /ml semen.

### **Motilitas Spermatozoa**

Pemeriksaan motilitas spermatozoa dilakukan menurut standart baku BIB Singosari (1997). Perhitungan motilitas spermatozoa dilakukan menggunakan gelas obyek yang diletesi 10-15  $\mu$ l semen dan ditutup dengan gelas penutup. Siapan diperiksa dengan pembesaran 400 kali menggunakan mikroskop cahaya biasa atau mikroskop fase kontras. Spermatozoa yang motil akan tampak bergerak maju ke depan. Selanjutnya spermatozoa yang motil dihitung dan dibagi jumlah seluruh spermatozoa yang tampak dalam satu lapangan pandang, dan dinyatakan dalam persen (%).

### **Persentase Hidup Spermatozoa**

Pemeriksaan persentase hidup spermatozoa dilakukan menurut standart baku BIB Singosari (1997). Perhitungan persentase hidup spermatozoa dilakukan dengan teknik pewarnaan dengan mencampurkan semen dan larutan eosin negrosin pada gelas obyek, kemudian dibuat preparat ulas dan dikeringkan. Spermatozoa yang mati akan menyerap warna, sedangkan spermatozoa yang hidup tidak menyerap warna. Selanjutnya spermatozoa yang hidup dihitung dan dibagi jumlah seluruh spermatozoa yang tampak dalam satu lapangan pandang, dan dinyatakan dalam persen (%).

### **Abnormalitas Spermatozoa**

Pemeriksaan abnormalitas spermatozoa dilakukan menurut standart baku BIB Singosari (1997). Perhitungan abnormalitas spermatozoa dilakukan dengan teknik pewarnaan dengan mencampurkan semen dan larutan eosin negrosin pada gelas obyek, kemudian dibuat preparat ulas dan dikeringkan. Spermatozoa yang tidak normal ditandai dengan kepala kecil, ekor palah, ekor melingkar dan lain-lain. Selanjutnya spermatozoa yang tidak normal dihitung dan dibagi jumlah seluruh spermatozoa yang tampak dalam satu lapangan pandang, dan dinyatakan dalam persen (%).

### **Integritas Membran Spermatozoa**

Integritas membran spermatozoa diamati menggunakan *hypoosmotic swelling test* (HOST) (Correa *et al.* 1996). Sebanyak 1 ml larutan hipoosmatik 150 m osmol ditambah dengan 0,1 ml semen dan diinkubasi pada suhu 37°C

selama 30 menit selanjutnya diamati dengan pembesaran 400 kali. Spermatozoa yang mempunyai permeabilitas membran utuh ditandai dengan adanya pembengkakan kepala dan ekor yang melingkar. Selanjutnya spermatozoa yang mempunyai permeabilitas membran utuh dihitung dan dibagi jumlah seluruh spermatozoa yang tampak dalam satu lapangan pandang, dan dinyatakan dalam persen (%).

#### 4.7.4 Uji Aktivitas SOD

Sampel semen yang akan digunakan untuk uji aktivitas SOD dapat disimpan dalam nitrogen cair sebelum digunakan. Uji aktivitas SOD dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometer. Sebanyak 100  $\mu$ l sampel semen ditambahkan buffer fosfat 900  $\mu$ l, xantin (25 mM) 100  $\mu$ l, xantin oksidase (1 Unit) 100  $\mu$ l dan *nitroblue tetrazolium* (NBT) 10  $\mu$ l. Setelah dipanaskan 10 menit pada temperatur 30°C, disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Selanjutnya supernatan dipisahkan dan ditambah buffer fosfat sampai 2 ml dan didiamkan selama 20 menit, kemudian diamati serapannya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 560 nm dan dilakukan pengukuran absorbansi SOD (Oberley and Spitz 1985).

Hasil pengukuran absorbansi dikonversikan melalui kurva baku standar yang menghubungkan nilai absorbansi dan aktivitas SOD murni pada suatu persamaan regresi linier, sehingga dihasilkan nilai aktivitas SOD dari sampel. Aktivitas SOD total diukur berdasarkan jumlah unit enzim SOD setiap mililiter semen (Chen and Pan 1996), sedangkan aktivitas SOD spesifik diukur berdasarkan jumlah unit enzim SOD setiap miligram protein (Lehninger, 1995).

#### 4.7.5 Uji Aktivitas Katalase

Sampel semen yang akan digunakan untuk uji aktivitas katalase dapat disimpan dalam nitrogen cair sebelum digunakan. Uji aktivitas katalase dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometer. Sebanyak 100  $\mu$ l sampel semen ditambahkan buffer fosfat 900  $\mu$ l dan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 60 mM sebanyak 1000  $\mu$ l. Kemudian diamati serapannya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 240 nm dalam 30 detik dan dilakukan pengukuran absorbansi katalase (Aebi, 1984)

Hasil pengukuran absorbansi dikonversikan melalui kurva baku standar yang menghubungkan nilai absorbansi dan aktivitas katalase murni pada suatu persamaan regresi linier, sehingga dihasilkan nilai aktivitas katalase dan sampel. Aktivitas katalase total diukur berdasarkan jumlah unit enzim katalase setiap mililiter semen, sedangkan aktivitas katalase spesifik diukur berdasarkan jumlah unit enzim katalase setiap miligram protein (Lehninger, 1995).

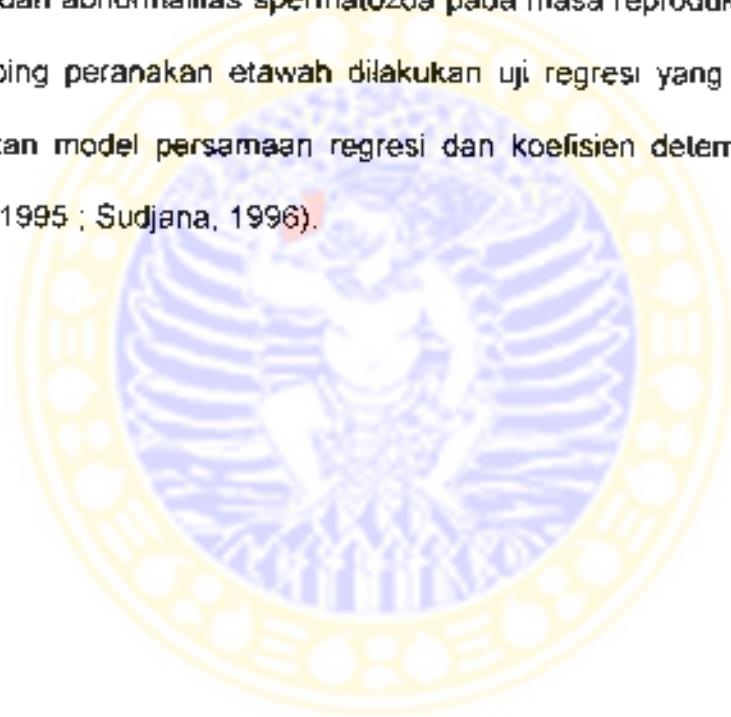
#### 4.8 Analisis Data

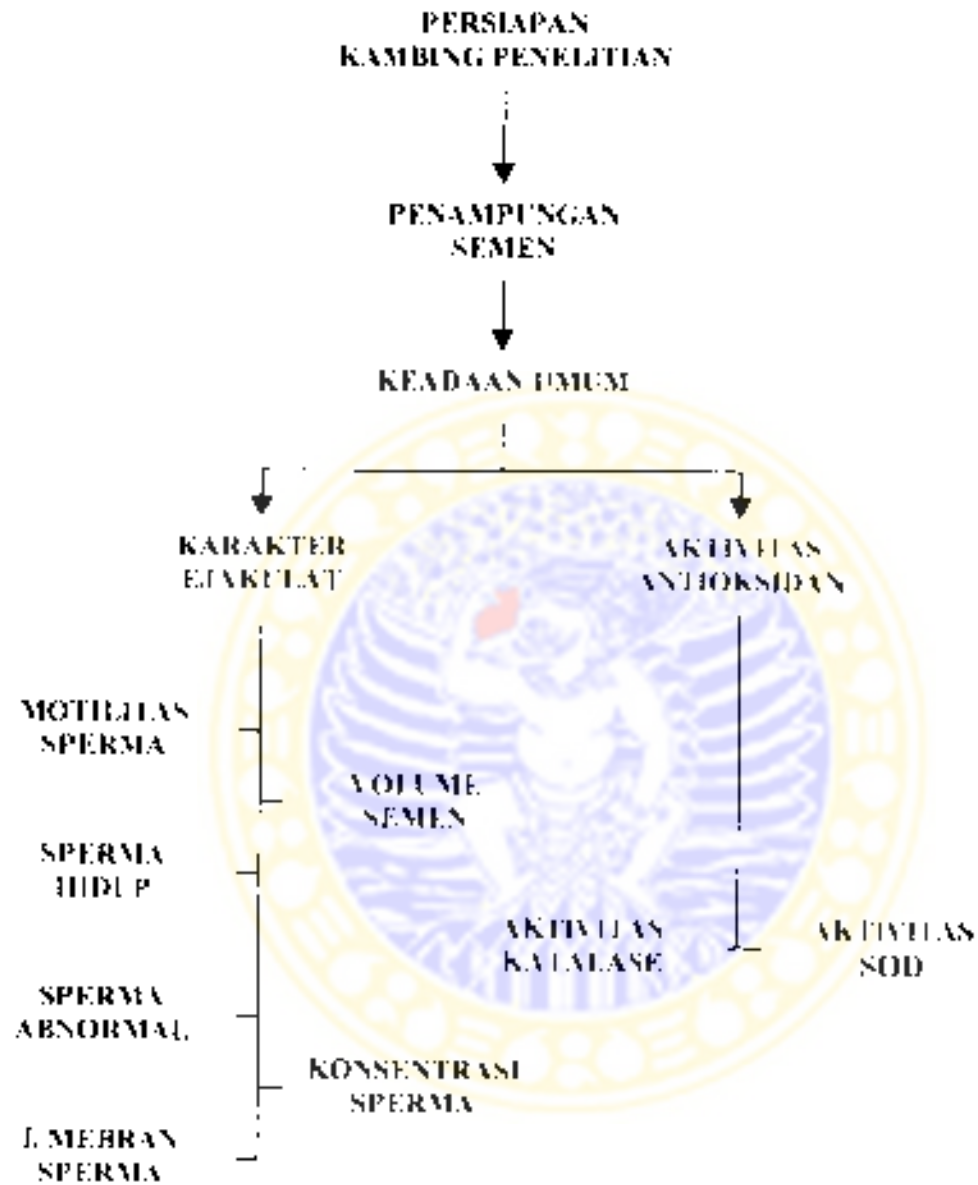
Analisis data untuk menguji perubahan volume semen, konsentrasi, motilitas, persentase hidup, abnormalitas, integritas membran spermatozoa, aktivitas SOD dan aktivitas katalase dalam semen kambing antara umur muda, sedang dan tua dilakukan analisis varian satu arah (Uji F), bila terdapat perbedaan yang bermakna dilanjutkan uji beda nyata terkecil (BNT) dengan taraf kepercayaan 95% ( $\alpha = 0.05$ ), untuk mengetahui derajat beda antar kelompok umur kambing



Analisis data untuk menguji perbedaan volume semen, konsentrasi, motilitas, persentase hidup, abnormalitas, integritas membran spermatozoa, aktivitas SOD dan aktivitas katalase dalam semen antara kambing kacang dan kambing peranakan etawah dilakukan uji hipotesis (Uji t).

Analisis data untuk menguji pengaruh aktivitas SOD terhadap integritas membran spermatozoa, pengaruh aktivitas katalase terhadap integritas membran spermatozoa, pengaruh integritas membran terhadap motilitas, persentase hidup dan abnormalitas spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah dilakukan uji regresi yang dilanjutkan dengan menentukan model persamaan regresi dan koefisien determinansi ( $r^2$ ) (Steel and Torne, 1995 ; Sudjana, 1996).





**Gambar 4.1 Skematis Kerangka Operasional Penelitian**

## BAB 5

### HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

Hasil pemeriksaan semen segar dari kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua, diperoleh gambaran keadaan umum semen yang sama yaitu warna semen krem, konsistensi agak kental sampai kental. gerakan massa mempunyai nilai +++ yaitu gerakan massa spermatozoa membentuk gelombang besar. dengan angka keasaman (pH) berkisar antara 6.8 sampai 7.2. Gambaran ini menunjukkan bahwa semen dalam keadaan normal dan dapat digunakan sebagai sampel untuk pemeriksaan karakter ejakulat lebih lanjut.

#### 5.1 Perubahan Karakter Ejakulat pada Masa Reproduksi Kambing Kacang dan Kambing Peranakan Etawah.

Hasil pemeriksaan volume semen dan konsentrasi spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua, dapat dilihat pada Tabel 5.1 di bawah ini.

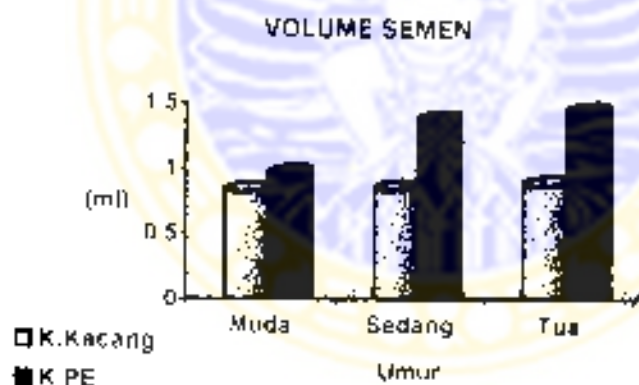
**Tabel 5.1** Volume semen dan konsentrasi spermatozoa pada masa reproduksi kambing umur muda, sedang dan tua.

Bangsa dan Umur Kambing	Karakter Ejakulat	
	Volume Semen (ml)	Konsentrasi Sperma ( $10^6/ml$ )
<b>Kambing Kacang</b>		
Muda	0.82 ± 0.10 <sup>a</sup>	3.19 ± 0.12 <sup>b</sup>
Sedang	0.83 ± 0.12 <sup>a</sup>	2.99 ± 0.11 <sup>a</sup>
Tua	0.87 ± 0.12 <sup>a</sup>	2.88 ± 0.22 <sup>a</sup>
<b>Kambing Peranakan Etawah</b>		
Muda	0.95 ± 0.11 <sup>a</sup>	3.43 ± 0.20 <sup>a</sup>
Sedang	1.36 ± 0.12 <sup>b</sup>	3.28 ± 0.28 <sup>a</sup>
Tua	1.43 ± 0.16 <sup>b</sup>	3.27 ± 0.20 <sup>a</sup>

Keterangan : Nilai rata-rata pada kolom yang sama diikuti superskrip berbeda, menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0.05$ ).

Volume semen meningkat pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua, yang ditunjukkan dalam Tabel 5.1. Hasil analisis varian satu arah menunjukkan bahwa volume semen kambing kacang tidak berbeda nyata ( $P > 0.05$ ) antara kambing umur muda, sedang dan tua. Volume semen kambing peranakan etawah berbeda nyata ( $P < 0.05$ ) antara kambing umur muda, sedang dan tua, dimana uji BNT menunjukkan bahwa volume semen kambing umur tua dan sedang lebih tinggi dibandingkan kambing umur muda ( $P < 0.05$ ).

Perubahan volume semen pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua, dapat dilihat pada diagram batang berikut ini.

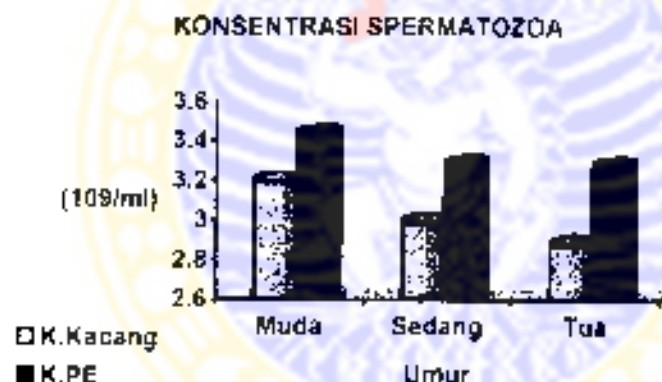


**Gambar 5.1. Volume semen pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua.**

Konsentrasi spermatozoa menurun pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua, yang ditunjukkan dalam Tabel 5.1. Hasil analisis varian satu arah menunjukkan bahwa

konsentrasi spermatozoa kambing kacang berbeda nyata ( $P < 0.05$ ) antara kambing umur muda, sedang dan tua, dimana uji BNT menunjukkan bahwa konsentrasi spermatozoa kambing umur muda lebih tinggi dibandingkan kambing umur sedang dan tua ( $P < 0.05$ ). Konsentrasi spermatozoa kambing peranakan etawah tidak berbeda nyata ( $P > 0.05$ ) antara kambing umur muda, sedang dan tua

Perubahan konsentrasi spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua, dapat dilihat pada diagram batang berikut ini.



**Gambar 5.2.** Konsentrasi spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua.

Hasil pemeriksaan motilitas, persentase hidup, abnormalitas dan integritas membran spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua, dapat dilihat pada Tabel 5.2 di bawah ini

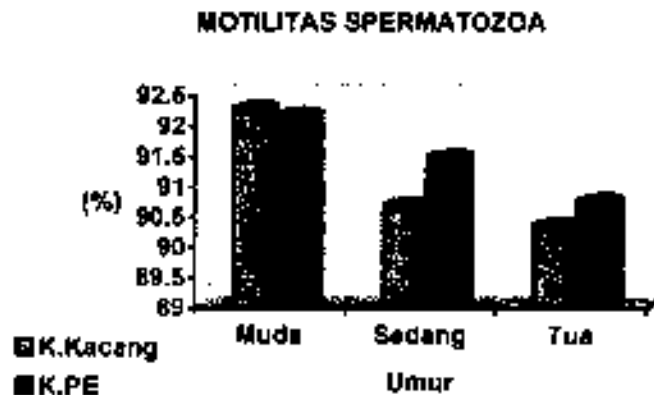
**Tabel 5.2** Motilitas, persentase hidup, abnormalitas dan integritas membran spermatozoa pada masa reproduksi kambing umur muda, sedang dan tua.

Bangsa dan Umur Kambing	Karakter Ejakulat			
	Motilitas Spermatozoa (%)	Spermatozoa Hidup (%)	Spermatozoa Abnormal (%)	Integritas Membran Spermatozoa (%)
<b>Kambing Kacang</b>				
Muda	92.23 ± 0.77 <sup>a</sup>	93.51 ± 0.97 <sup>b</sup>	01.95 ± 0.89 <sup>d</sup>	88.38 ± 0.92 <sup>c</sup>
Sedang	90.64 ± 0.64 <sup>a</sup>	92.23 ± 0.37 <sup>a</sup>	02.45 ± 0.13 <sup>d</sup>	85.66 ± 0.86 <sup>b</sup>
Tua	90.31 ± 0.79 <sup>a</sup>	91.92 ± 0.30 <sup>a</sup>	02.80 ± 0.23 <sup>b</sup>	84.35 ± 0.72 <sup>a</sup>
<b>Kambing P. Etawah</b>				
Muda	92.12 ± 1.06 <sup>b</sup>	93.37 ± 1.13 <sup>d</sup>	01.89 ± 1.08 <sup>d</sup>	88.13 ± 0.25 <sup>c</sup>
Sedang	91.43 ± 0.78 <sup>b</sup>	92.93 ± 1.32 <sup>b</sup>	02.57 ± 0.91 <sup>d</sup>	87.53 ± 0.98 <sup>b</sup>
Tua	90.71 ± 0.54 <sup>a</sup>	92.27 ± 1.09 <sup>a</sup>	02.89 ± 0.90 <sup>d</sup>	86.14 ± 1.01 <sup>a</sup>

Keterangan : Nilai rata-rata pada kolom yang sama diikuti superskrip berbeda, menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0.05$ ).

Motilitas spermatozoa menurun pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua, yang ditunjukkan dalam Tabel 5.2. Hasil analisis varian satu arah menunjukkan bahwa motilitas spermatozoa berbeda nyata ( $P < 0.05$ ) antara kambing umur muda, sedang dan tua, baik pada kambing kacang maupun kambing peranakan etawah. Uji BNT menunjukkan bahwa motilitas spermatozoa kambing kacang umur muda lebih tinggi dibandingkan kambing umur sedang dan tua ( $P < 0.05$ ). Motilitas spermatozoa kambing peranakan etawah umur muda lebih tinggi dibandingkan kambing umur tua ( $P < 0.05$ ), tetapi berbeda tidak nyata dengan kambing umur sedang ( $P > 0.05$ ).

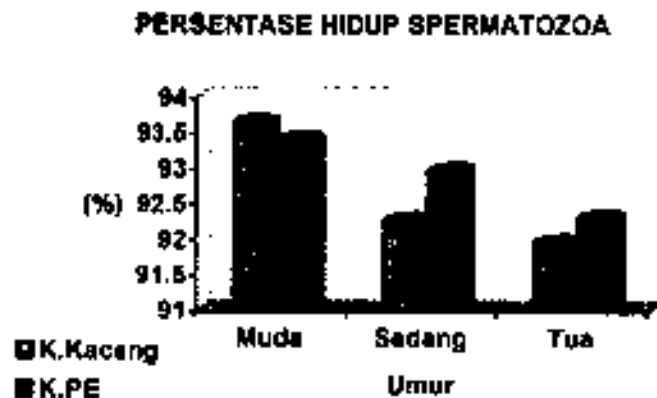
Perubahan motilitas spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua dapat dilihat pada diagram batang berikut ini



**Gambar 5.3.** Motilitas spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua.

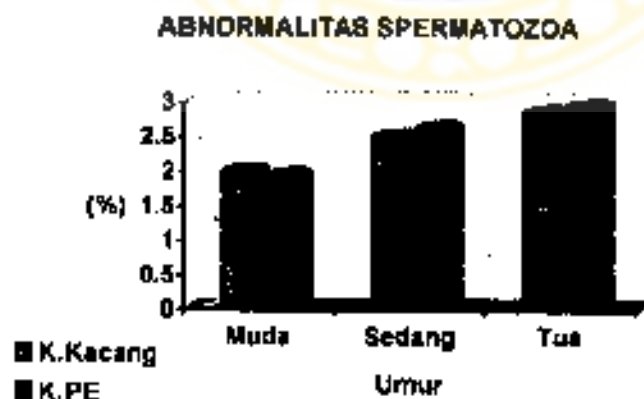
Persentase hidup spermatozoa menurun pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua, yang ditunjukkan dalam Tabel 5.2. Hasil analisis varian satu arah menunjukkan bahwa persentase hidup spermatozoa dari kambing kacang berbeda nyata ( $P < 0.05$ ) antara kambing umur muda, sedang dan tua, dimana uji BNT menunjukkan bahwa persentase hidup spermatozoa dari kambing kacang umur muda lebih tinggi dibandingkan kambing umur sedang dan tua ( $P < 0.05$ ). Persentase hidup spermatozoa dari kambing peranakan etawah tidak berbeda nyata ( $P > 0.05$ ) antara kambing umur muda, sedang dan tua.

Perubahan persentase hidup spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua, dapat dilihat pada diagram batang berikut ini.



**Gambar 5.4.** Persentase hidup spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua.

Abnormalitas spermatozoa meningkat pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua, yang ditunjukkan dalam Tabel 5.2. Hasil analisis varian satu arah menunjukkan bahwa abnormalitas spermatozoa, baik dari kambing kacang maupun kambing peranakan etawah tidak berbeda nyata ( $P > 0.05$ ) antara kambing umur muda, sedang dan tua.



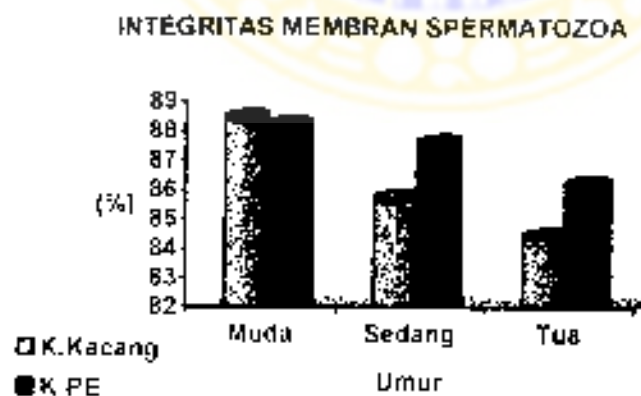
**Gambar 5.5.** Abnormalitas spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua.



Perubahan abnormalitas spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua, dapat dilihat pada Gambar 5.5

Integritas membran spermatozoa menurun pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua, yang ditunjukkan dalam Tabel 5.1.2. Hasil analisis varian satu arah menunjukkan bahwa integritas membran spermatozoa, baik pada kambing kacang maupun kambing peranakan etawah berbeda nyata ( $P < 0.05$ ) antara kambing umur muda, sedang dan tua. Uji BNT menunjukkan bahwa, integritas membran spermatozoa kambing kacang umur muda lebih tinggi dibandingkan kambing umur sedang dan tua ( $P < 0.05$ ). Integritas membran spermatozoa kambing peranakan etawah umur muda dan sedang lebih tinggi dibandingkan kambing umur tua ( $P < 0.05$ ).

Perubahan integritas membran spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua, dapat dilihat pada diagram batang berikut ini.



**Gambar 5.6.** Integritas membran spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua.

## 5.2 Perubahan Aktivitas Antioksidan pada Masa Reproduksi Kambing Kacang dan Kambing Peranakan Etawah.

Hasil pemeriksaan aktivitas SOD total dan spesifik dalam semen pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua, dapat dilihat pada Tabel 5.3 di bawah ini.

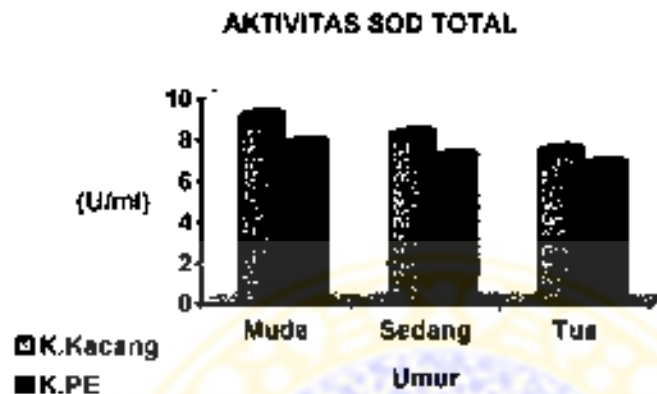
**Tabel 5.3** Aktivitas SOD dalam semen pada masa reproduksi kambing umur muda, sedang dan tua.

Bangsa dan Umur Kambing	Aktivitas SOD	
	Total (U/ml semen)	Spesifik (U/mg prot)
<b>Kambing Kacang</b>		
Muda	08.96 ± 0.20 <sup>a</sup>	13.98 ± 0.31 <sup>a</sup>
Sedang	08.07 ± 0.30 <sup>b</sup>	12.57 ± 0.47 <sup>b</sup>
Tua	07.25 ± 0.49 <sup>c</sup>	09.38 ± 0.63 <sup>b</sup>
<b>Kambing Peranakan Etawah</b>		
Muda	07.58 ± 0.29 <sup>c</sup>	12.07 ± 0.46 <sup>b</sup>
Sedang	06.98 ± 0.37 <sup>b</sup>	11.04 ± 0.59 <sup>b</sup>
Tua	06.59 ± 0.30 <sup>b</sup>	08.46 ± 0.39 <sup>a</sup>

Keterangan : Nilai rata-rata pada kolom yang sama diikuti superskrip berbeda, menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0.05$ )

Aktivitas SOD total dalam semen menurun pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua, yang ditunjukkan dalam Tabel 5.3. Hasil analisis varian satu arah menunjukkan bahwa aktivitas SOD total dalam semen baik pada kambing kacang maupun kambing peranakan etawah berbeda nyata ( $P < 0.05$ ) antara kambing umur muda, sedang dan tua. Uji BNT menunjukkan bahwa aktivitas SOD total dalam semen kambing umur muda lebih tinggi dibandingkan kambing umur sedang dan tua ( $P < 0.05$ )

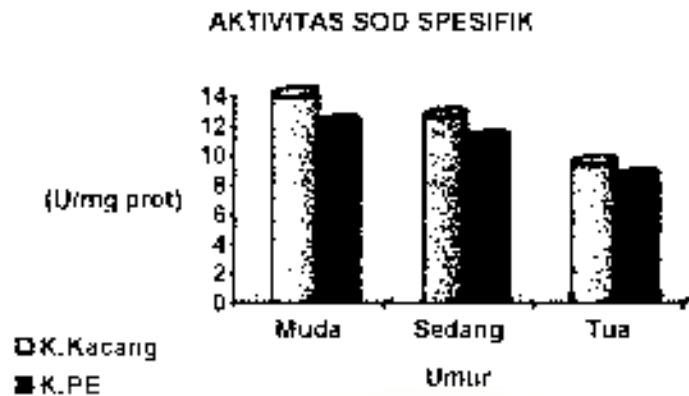
Perubahan aktivitas SOD total dalam semen pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua, dapat dilihat pada diagram batang berikut ini.



**Gambar 5.7.** Aktivitas SOD total pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua.

Aktivitas SOD spesifik dalam semen menurun pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua, yang ditunjukkan dalam Tabel 5.3. Hasil analisis varian satu arah menunjukkan bahwa aktivitas SOD spesifik dalam semen baik pada kambing kacang maupun kambing peranakan etawah berbeda nyata ( $P < 0.05$ ) antara kambing umur muda, sedang dan tua. Uji BNT menunjukkan bahwa aktivitas SOD spesifik dalam semen kambing umur muda lebih tinggi dibandingkan kambing umur sedang dan tua ( $P < 0.05$ ).

Perubahan aktivitas SOD spesifik dalam semen pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua, dapat dilihat pada diagram batang berikut ini.



**Gambar 5.8.** Aktivitas SOD spesifik pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua.

Hasil pemeriksaan aktivitas katalase total dan spesifik dalam semen pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua, dapat dilihat pada Tabel 5.4 di bawah ini.

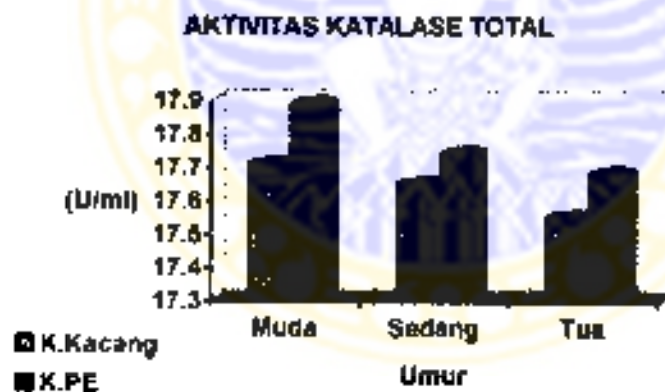
**Tabel 5.4** Aktivitas katalase dalam semen pada masa reproduksi kambing umur muda, sedang dan tua.

Bangsa dan Umur Kambing	Aktivitas Katalase	
	Total (U/ml semen)	Spesifik (U/mg prot)
<b>Kambing Kacang</b>		
Muda	17.70 ± 0.06 <sup>a</sup>	27.51 ± 0.09 <sup>a</sup>
Sedang	17.64 ± 0.05 <sup>a</sup>	27.47 ± 0.08 <sup>a</sup>
Tua	17.64 ± 0.06 <sup>a</sup>	22.49 ± 0.08 <sup>b</sup>
<b>Kambing Peranakan Etawah</b>		
Muda	17.88 ± 0.06 <sup>c</sup>	28.49 ± 0.10 <sup>a</sup>
Sedang	17.73 ± 0.05 <sup>b</sup>	28.05 ± 0.09 <sup>b</sup>
Tua	17.67 ± 0.06 <sup>d</sup>	22.86 ± 0.07 <sup>b</sup>

**Keterangan** Nilai rata-rata pada kolom yang sama diikuti supersknp berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0.05$ )

Aktivitas katalase total dalam semen menurun pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua, yang ditunjukkan dalam Tabel 5.4. Hasil analisis varian satu arah menunjukkan bahwa aktivitas katalase total dalam semen baik pada kambing kacang maupun kambing peranakan etawah berbeda nyata ( $P < 0.05$ ) antara kambing umur muda, sedang dan tua. Uji BNT menunjukkan bahwa aktivitas katalase total dalam semen kambing umur muda lebih tinggi dibandingkan kambing umur sedang dan tua ( $P < 0.05$ ).

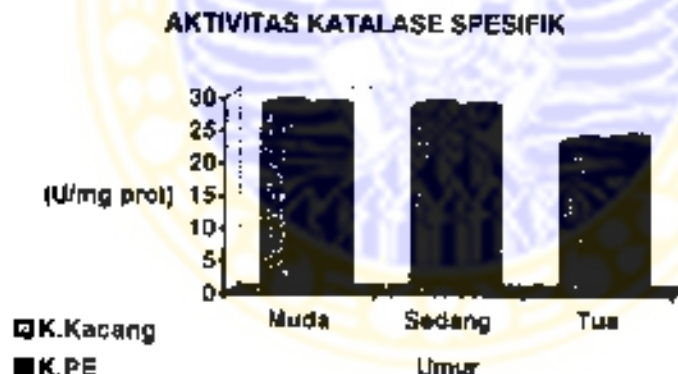
Perubahan aktivitas katalase total dalam semen pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua, dapat dilihat pada diagram batang berikut ini.



**Gambar 5.9.** Aktivitas katalase total pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua.

Aktivitas katalase spesifik dalam semen menurun pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua, yang ditunjukkan dalam Tabel 5.4. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa aktivitas katalase spesifik dalam semen baik pada kambing kacang maupun kambing peranakan etawah berbeda nyata ( $P < 0.05$ ) antara kambing umur muda, sedang dan tua. Aktivitas katalase spesifik dalam semen yang berasal dari kambing umur muda lebih tinggi dibandingkan kambing umur sedang dan tua ( $P < 0.05$ ).

Perubahan aktivitas katalase spesifik dalam semen pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua, dapat dilihat pada diagram batang berikut ini.



**Gambar 5.10.** Aktivitas katalase spesifik pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah umur muda, sedang dan tua.

### 5.3 Perbedaan Karakter Ejakulat dan Aktivitas Antioksidan antara Kambing Kacang dan Kambing Peranakan Etawah

Perbedaan volume semen dan konsentrasi spermatozoa antara kambing kacang dan kambing peranakan etawah pada umur muda, sedang dan tua, dapat dilihat pada tabel 5.5 di bawah ini.

**Tabel 5.5** Perbedaan volume semen dan konsentrasi spermatozoa antara kambing kacang dan kambing peranakan etawah.

Umur dan Bangsa Kambing	Kuantitas Semen	
	Volume Semen (ml)	Konsentrasi Sperma ( $10^3/ml$ )
<b>Umur Muda</b>		
Kacang	0.82 ± 0.10 <sup>a</sup>	3.19 ± 0.12 <sup>a</sup>
Peranakan Etawah	0.95 ± 0.11 <sup>b</sup>	3.43 ± 0.20 <sup>b</sup>
<b>Umur Sedang</b>		
Kacang	0.83 ± 0.12 <sup>a</sup>	2.99 ± 0.11 <sup>a</sup>
Peranakan Etawah	1.36 ± 0.12 <sup>b</sup>	3.28 ± 0.28 <sup>b</sup>
<b>Umur Tua</b>		
Kacang	0.87 ± 0.12 <sup>a</sup>	2.68 ± 0.22 <sup>a</sup>
Peranakan Etawah	1.43 ± 0.16 <sup>b</sup>	3.27 ± 0.20 <sup>b</sup>

Keterangan: Nilai rata-rata pada kolom yang sama diikuti superskrip berbeda, menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0.05$ ).

Hasil uji t menunjukkan bahwa, volume semen kambing kacang lebih rendah dibandingkan kambing peranakan etawah, baik pada umur muda, sedang maupun tua ( $P < 0.05$ ). Konsentrasi spermatozoa kambing kacang lebih rendah dibandingkan kambing peranakan etawah, baik pada umur muda, sedang maupun tua ( $P < 0.05$ ).

Perbedaan motilitas, persentase hidup, abnormalitas dan integritas membran spermatozoa antara kambing kacang dan kambing peranakan etawah, dapat dilihat pada Tabel 5.6 di bawah ini.

**Tabel 5.6 Perbedaan motilitas, persentase hidup, abnormalitas dan integritas membran spermatozoa antara kambing kacang dan kambing peranakan etawah.**

Umur dan Bangsa Kambing	Kualitas Semen			
	Motilitas Spermatozoa (%)	Spermatozoa Hidup (%)	Spermatozoa Abnormal (%)	Integritas Membran Spermatozoa (%)
Umur Muda				
Kacang	92.23 ± 0.77 <sup>a</sup>	93.61 ± 0.97 <sup>a</sup>	01.95 ± 0.89 <sup>a</sup>	88.38 ± 0.92 <sup>a</sup>
Peranakan Etawah	92.12 ± 0.66 <sup>a</sup>	93.37 ± 1.13 <sup>a</sup>	01.89 ± 1.08 <sup>a</sup>	88.13 ± 1.25 <sup>a</sup>
Umur Sedang				
Kacang	90.64 ± 0.64 <sup>a</sup>	92.23 ± 1.37 <sup>a</sup>	02.45 ± 1.13 <sup>a</sup>	85.66 ± 0.86 <sup>a</sup>
Peranakan Etawah	91.43 ± 0.78 <sup>b</sup>	92.93 ± 1.32 <sup>a</sup>	02.57 ± 0.91 <sup>a</sup>	87.53 ± 0.98 <sup>b</sup>
Umur Tua				
Kacang	90.31 ± 0.79 <sup>a</sup>	91.92 ± 0.30 <sup>a</sup>	02.80 ± 0.23 <sup>a</sup>	84.35 ± 0.72 <sup>a</sup>
Peranakan Etawah	90.71 ± 0.54 <sup>a</sup>	92.27 ± 1.09 <sup>a</sup>	02.89 ± 0.90 <sup>a</sup>	86.14 ± 1.01 <sup>b</sup>

Keterangan . Nilai rata-rata pada kolom yang sama diikuti superskrip berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0.05$ )

Hasil uji t menunjukkan bahwa, motilitas spermatozoa kambing kacang tidak berbeda nyata dengan kambing peranakan etawah pada umur muda dan tua ( $P > 0.05$ ), tetapi motilitas spermatozoa kambing kacang lebih rendah dibandingkan kambing peranakan etawah pada umur sedang ( $P < 0.05$ ). Persentase hidup spermatozoa kambing kacang tidak berbeda nyata dengan kambing peranakan etawah, baik pada umur muda, sedang maupun tua ( $P > 0.05$ ). Abnormalitas spermatozoa kambing kacang tidak berbeda nyata dengan kambing peranakan etawah, baik pada umur muda, sedang maupun tua ( $P > 0.05$ ). Integritas membran spermatozoa kambing kacang tidak berbeda nyata dengan kambing peranakan etawah pada umur muda ( $P > 0.05$ ), tetapi integritas membran spermatozoa kambing kacang lebih rendah dibandingkan kambing peranakan etawah pada umur sedang dan tua ( $P < 0.05$ ).



Perbedaan aktivitas SOD total dan spesifik antara kambing kacang dan kambing peranakan etawah pada umur muda, sedang dan tua, dapat dilihat pada tabel 5.7 di bawah ini

**Tabel 5.7 Perbedaan aktivitas SOD dalam semen antara kambing kacang dan kambing peranakan etawah.**

Umur dan Bangsa Kambing	Aktivitas SOD	
	Total (U/ml semen)	Spesifik (U/mg prot)
Umur Muda		
Kacang	08.96 ± 0.20 <sup>b</sup>	13.98 ± 0.31 <sup>b</sup>
Peranakan Etawah	07.58 ± 0.29 <sup>a</sup>	12.07 ± 0.46 <sup>a</sup>
Umur Sedang		
Kacang	08.07 ± 0.30 <sup>b</sup>	12.57 ± 0.47 <sup>b</sup>
Peranakan Etawah	06.98 ± 0.37 <sup>a</sup>	11.04 ± 0.59 <sup>a</sup>
Umur Tua		
Kacang	07.25 ± 0.49 <sup>b</sup>	09.38 ± 0.63 <sup>b</sup>
Peranakan Etawah	06.59 ± 0.30 <sup>a</sup>	08.46 ± 0.39 <sup>a</sup>

Keterangan Nilai rata-rata pada kolom yang sama diikuti superskrip berbeda, menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0.05$ )

Hasil uji t menunjukkan bahwa, aktivitas SOD total dalam semen kambing kacang lebih tinggi dibandingkan kambing peranakan etawah, baik pada umur muda, sedang maupun tua ( $P < 0.05$ ). Aktivitas SOD spesifik dalam semen kambing kacang lebih tinggi dibandingkan kambing peranakan etawah baik pada umur muda, sedang maupun tua ( $P < 0.05$ ).

Perbedaan aktivitas katalase total dan spesifik antara kambing kacang dan kambing peranakan etawah pada umur muda, sedang dan tua, dapat dilihat pada Tabel 5.8 di bawah ini

**Tabel 5.8 Perbedaan aktivitas katalase dalam semen antara kambing kacang dan kambing peranakan etawah.**

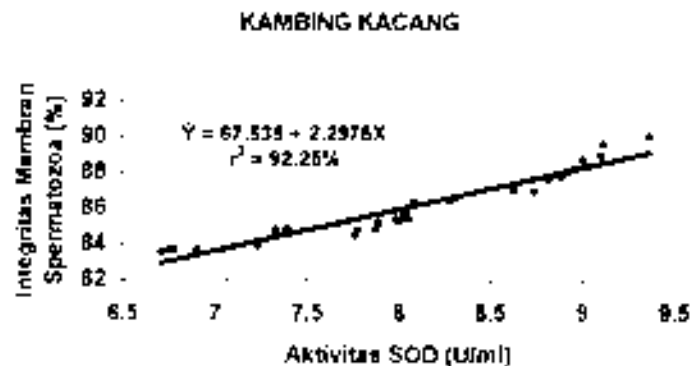
Umur dan Bangsa Kambing	Aktivitas Katalase	
	Totol (U/ml semen)	Spesifik (U/mg prot)
Umur Muda		
Kacang	17.70 ± 0.06 <sup>a</sup>	27.61 ± 0.09 <sup>a</sup>
Peranakan Etawah	17.88 ± 0.06 <sup>b</sup>	28.49 ± 0.10 <sup>b</sup>
Umur Sedang		
Kacang	17.64 ± 0.05 <sup>a</sup>	27.47 ± 0.08 <sup>a</sup>
Peranakan Etawah	17.73 ± 0.06 <sup>b</sup>	28.05 ± 0.09 <sup>b</sup>
Umur Tua		
Kacang	17.54 ± 0.06 <sup>a</sup>	22.49 ± 0.08 <sup>a</sup>
Peranakan Etawah	17.67 ± 0.06 <sup>b</sup>	22.86 ± 0.07 <sup>b</sup>

Keterangan: Nilai rata-rata pada kolom yang sama diikuti supersknp berbeda, menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0.05$ )

Hasil uji t menunjukkan bahwa, aktivitas katalase total dalam semen kambing kacang lebih rendah dibandingkan kambing peranakan etawah, baik pada umur muda, sedang maupun tua ( $P < 0.05$ ). Aktivitas katalase spesifik dalam semen kambing kacang lebih rendah dibandingkan kambing peranakan etawah pada baik pada umur muda, sedang maupun tua ( $P < 0.05$ ).

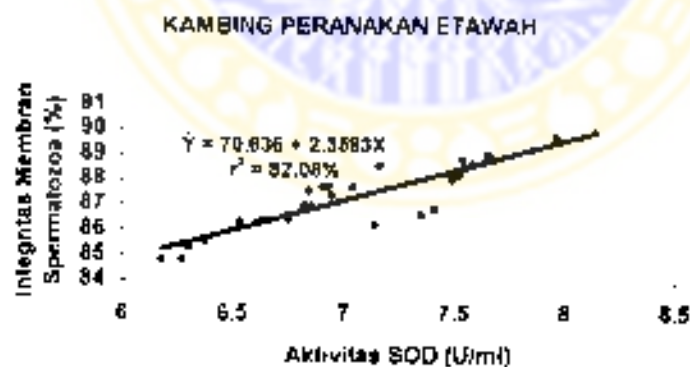
#### **5.4 Pengaruh Aktivitas SOD terhadap Integritas Membran Spermatozoa pada Masa Reproduksi Kambing Kacang dan Kambing Peranakan Etawah.**

Analisis data menggunakan uji regresi, menunjukkan aktivitas SOD berpengaruh positif terhadap integritas membran spermatozoa ( $P < 0.05$ ), baik pada kambing kacang maupun kambing peranakan etawah. Hal ini berarti bahwa makin tinggi aktivitas SOD dalam semen yang diejakulasikan, makin tinggi pula integritas membran spermatozoa.



**Gambar 5.11** Garis linier yang menunjukkan pengaruh aktivitas SOD terhadap integritas membran spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang.

Gambar 5.11 menunjukkan pengaruh aktivitas SOD terhadap integritas membran spermatozoa pada kambing kacang melalui persamaan regresi  $\hat{Y} = 67.5348 + 2.2976X$ , dengan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) = 0.9605 dan koefisien determinasi ( $r^2$ ) = 92.25% (Lampiran 21).

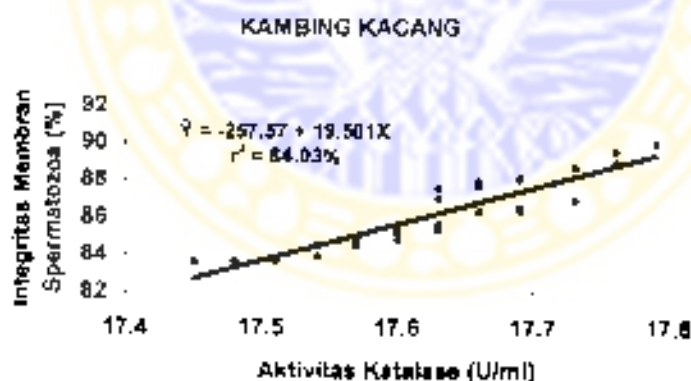


**Gambar 5.12** Garis linier yang menunjukkan pengaruh aktivitas SOD terhadap integritas membran spermatozoa pada masa reproduksi kambing peranakan etawah.

Gambar 5.12 menunjukkan pengaruh aktivitas SOD terhadap integritas membran spermatozoa pada kambing peranakan etawah melalui persamaan regresi  $\hat{Y} = 70.6357 + 2.3593X$ , dengan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) = 0.9060 dan koefisien determinasi ( $r^2$ ) = 82.08% (Lampiran 21).

### 5.5 Pengaruh Aktivitas Katalase terhadap Integritas Membran Spermatozoa pada Masa Reproduksi Kambing Kacang dan Kambing Peranakan Etawah.

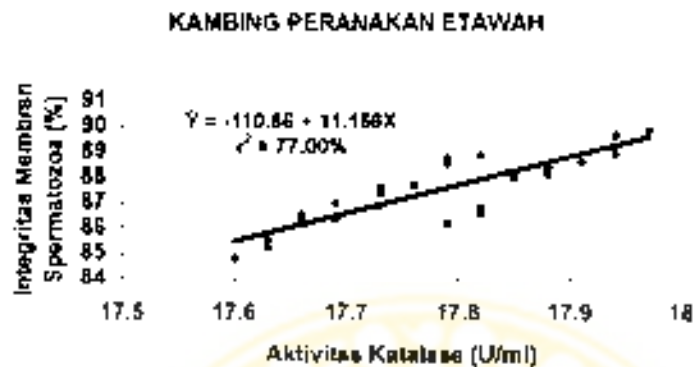
Analisis data menggunakan uji regresi, menunjukkan aktivitas katalase berpengaruh positif terhadap integritas membran spermatozoa ( $P < 0.05$ ), baik pada kambing kacang maupun kambing peranakan etawah. Hal ini berarti bahwa makin tinggi aktivitas katalase dalam semen yang diejakulasikan, makin tinggi pula integritas membran spermatozoa.



**Gambar 5.13** Garis linier yang menunjukkan pengaruh aktivitas katalase terhadap Integritas membran spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang.

Gambar 5.13 menunjukkan pengaruh aktivitas katalase terhadap integritas membran spermatozoa pada kambing kacang melalui persamaan

regresi  $\hat{Y} = -257.5656 + 19.5008X$ , dengan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) = 0.9137 dan koefisien determinasi ( $r^2$ ) = 84.03% (Lampiran 22).



**Gambar 5.14** Garis linier yang menunjukkan pengaruh aktivitas katalase terhadap integritas membran spermatozoa pada masa reproduksi kambing peranakan etawah.

Gambar 5.14 menunjukkan pengaruh aktivitas katalase terhadap integritas membran spermatozoa pada kambing peranakan etawah melalui persamaan regresi  $\hat{Y} = -110.8581 + 11.1555X$ , dengan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) = 0.8775 dan koefisien determinasi ( $r^2$ ) = 77.00% (Lampiran 22)

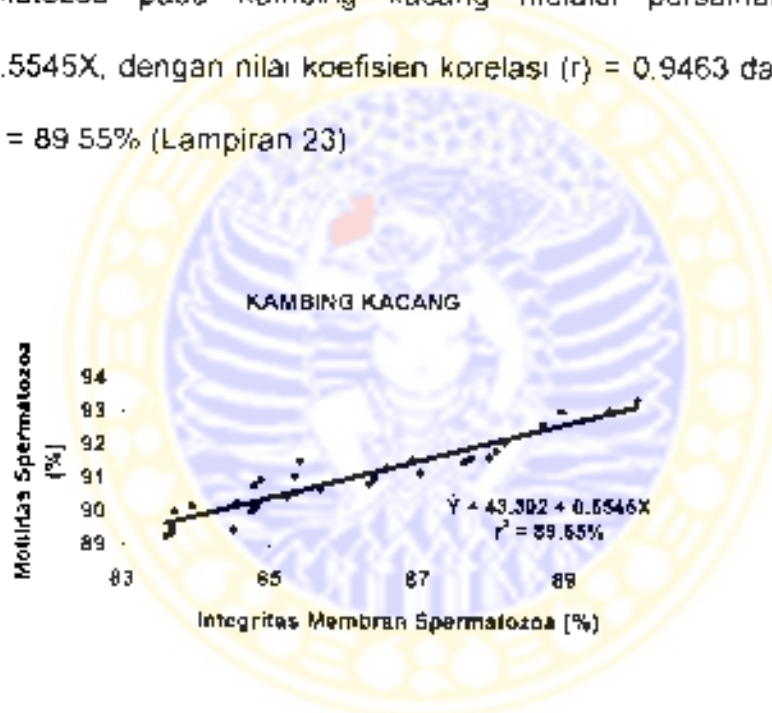
### 5.6 Pengaruh Integritas Membran terhadap Motilitas, Persentase Hidup dan Abnormalitas Spermatozoa pada Masa Reproduksi Kambing Kacang dan Kambing Peranakan Etawah.

Untuk mengetahui pengaruh integritas membran terhadap motilitas persentase hidup dan abnormalitas spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah dilakukan uji regresi sederhana, yang dilanjutkan dengan menentukan persamaan regresi dan koefisien determinasi ( $r^2$ ).

### Pengaruh Integritas Membran terhadap Motilitas Spermatozoa

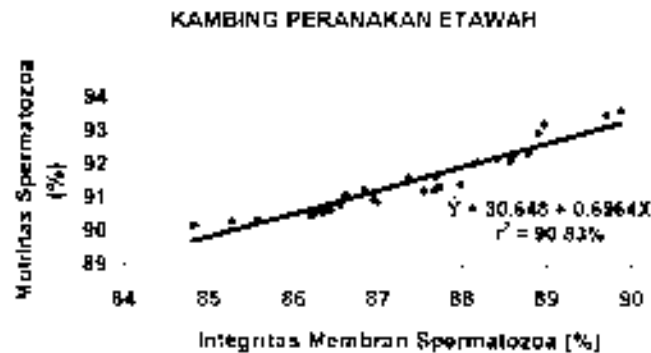
Analisis data menggunakan uji regresi, menunjukkan integritas membran berpengaruh positif terhadap motilitas spermatozoa ( $P < 0.05$ ), baik pada kambing kacang maupun kambing peranakan etawah. Hal ini berarti bahwa makin tinggi integritas membran spermatozoa dalam semen yang diejakulasikan, makin tinggi pula motilitas spermatozoa.

Gambar 5.15 menunjukkan pengaruh integritas membran terhadap motilitas spermatozoa pada kambing kacang melalui persamaan regresi  $\hat{Y} = 43.302 + 0.5545X$ , dengan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) = 0.9463 dan koefisien determinasi ( $r^2$ ) = 89.55% (Lampiran 23)



**Gambar 5.15** Garis linier yang menunjukkan pengaruh integritas membran terhadap motilitas spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang.

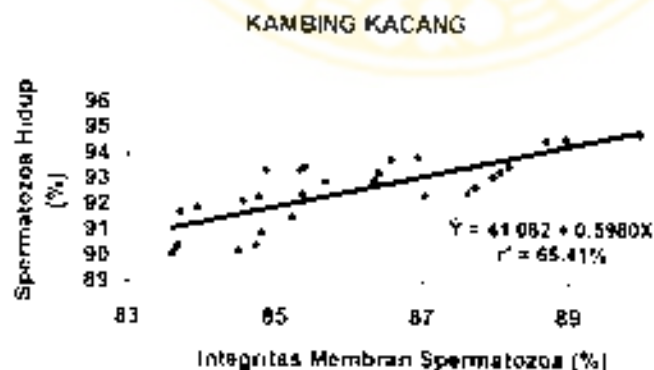
Gambar 5.16 menunjukkan pengaruh integritas membran terhadap motilitas spermatozoa pada kambing peranakan etawah melalui persamaan regresi  $\hat{Y} = 30.648 + 0.6964X$ , dengan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) = 0.9530 dan koefisien determinasi ( $r^2$ ) = 90.83% (Lampiran 23)



**Gambar 5.16** Garis linier yang menunjukkan pengaruh integritas membran terhadap motilitas spermatozoa pada masa reproduksi kambing peranakan etawah.

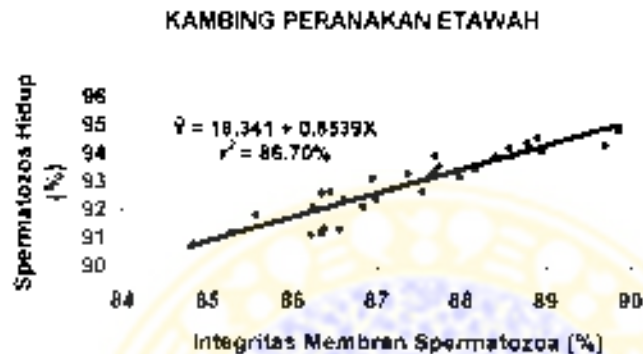
#### **Pengaruh Integritas Membran terhadap Persentase Hidup Spermatozoa**

Analisis data menggunakan uji regresi menunjukkan integritas membran berpengaruh positif terhadap persentase hidup spermatozoa ( $P < 0.05$ ), baik pada kambing kacang maupun kambing peranakan etawah. Hal ini berarti, bahwa makin tinggi integritas membran spermatozoa dalam semen yang diejakulasikan, makin tinggi pula persentase hidup spermatozoa.



**Gambar 5.17** Garis linier yang menunjukkan pengaruh integritas membran terhadap persentase hidup spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang.

Gambar 5.17 menunjukkan pengaruh integritas membran terhadap persentase hidup spermatozoa pada kambing kacang melalui persamaan regresi  $\hat{Y} = 41.082 + 0.598x$  dengan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) = 0.8088 dan koefisien determinasi ( $r^2$ ) = 65.41 (Lampiran 24).



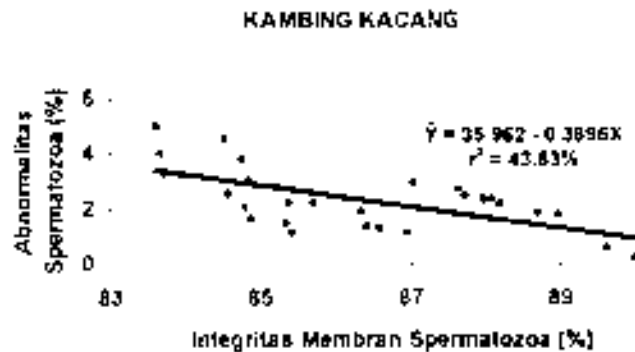
**Gambar 5.18** Garis linier yang menunjukkan pengaruh integritas membran terhadap persentase hidup spermatozoa pada masa reproduksi kambing peranakan etawah.

Gambar 5.18 menunjukkan pengaruh integritas membran terhadap persentase hidup spermatozoa pada kambing peranakan etawah melalui persamaan regresi  $\hat{Y} = 18.341 + 0.8539X$ , dengan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) = 0.9311 dan koefisien determinasi ( $r^2$ ) = 86.70% (Lampiran 24).

### **Pengaruh Integritas Membran terhadap Abnormalitas Spermatozoa**

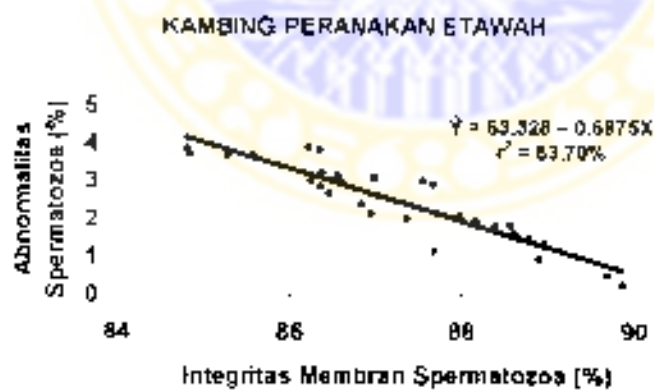
Analisis data menggunakan uji regresi menunjukkan integritas membran berpengaruh negatif terhadap abnormalitas spermatozoa ( $P < 0.05$ ), baik pada kambing kacang maupun kambing peranakan etawah. Hal ini berarti bahwa makin tinggi integritas membran spermatozoa dalam semen yang diejakulasikan, makin rendah abnormalitas spermatozoa.





**Gambar 5.19** Garis linier yang menunjukkan pengaruh integritas membran terhadap abnormalitas spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang.

Gambar 5.19 menunjukkan pengaruh integritas membran terhadap abnormalitas spermatozoa pada kambing kacang melalui persamaan regresi  $\hat{Y} = 35.962 - 0.3896X$ , dengan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) = -0.6620 dan koefisien determinasi ( $r^2$ ) = 43.83% (Lampiran 25)



**Gambar 5.20** Garis linier yang menunjukkan pengaruh integritas membran terhadap abnormalitas spermatozoa pada masa reproduksi kambing peranakan etawah.

Gambar 5.20 menunjukkan pengaruh integritas membran terhadap abnormalitas spermatozoa pada kambing peranakan etawah melalui persamaan regresi  $\hat{Y} = 63.318 - 0.6975X$ , dengan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) = -0.9149 dan koefisien determinasi ( $r^2$ ) = 83.70% (Lampiran 25).



## BAB 6

### PEMBAHASAN

Keadaan umum semen segar hasil penampungan dengan menggunakan vagina buatan pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah, yang meliputi warna, konsistensi, gerakan massa dan pH menunjukkan keadaan normal dan mempunyai gambaran yang sama antara kambing umur muda, sedang dan tua. Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada perubahan keadaan umum semen segar seiring dengan bertambahnya umur pada masa reproduksi kambing kacang maupun kambing peranakan etawah.

#### **6.1 Perubahan Karakter Ejakulat pada Masa Reproduksi Kambing Kacang dan Kambing Peranakan Etawah.**

Perubahan karakter ejakulat terjadi selama masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah. Pada masa reproduksi kambing kacang konsentrasi, motilitas, persentase hidup dan integritas membran spermatozoa menurun, tetapi volume semen dan abnormalitas spermatozoa tidak mengalami perubahan nyata. Pada masa reproduksi kambing peranakan etawah volume semen meningkat motilitas dan integritas membran spermatozoa menurun, tetapi konsentrasi, persentase hidup dan abnormalitas spermatozoa tidak mengalami perubahan nyata.

#### **Volume Semen**

Volume semen kambing meningkat seiring dengan bertambahnya umur kambing selama masa reproduksi. Perubahan volume semen pada kambing

peranakan etawah menunjukkan perbedaan yang nyata antara kambing umur muda, sedang dan tua. Sedangkan perubahan volume semen pada kambing kacang tidak menunjukkan perbedaan yang nyata antara kambing umur muda, sedang dan tua.

Menurut Toelihere (1985), volume semen tiap ejakulat berbeda-beda menurut jenis, bangsa, umur dan ukuran badan pejantan, serta dipengaruhi pula oleh tingkat pemberian pakan dan frekuensi pengambilan semen serta berbagai faktor lain. Wildeus (1995) menjelaskan bahwa umur berpengaruh signifikan terhadap berat badan, sirkumferen skrotal dan volume ejakulat.

Pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah, dengan bertambahnya umur kambing terjadi peningkatan sekresi dari kelenjar assesoris yang memberikan kontribusi terhadap peningkatan plasma semen. Sekresi kelenjar assesoris ini berhubungan dengan ukuran beral badan pejantan dan mempunyai pengaruh terhadap peningkatan volume semen yang diejakulasikan. Kambing umur tua cenderung mempunyai ukuran berat badan yang lebih besar, sehingga menghasilkan volume semen tiap ejakulasi yang lebih banyak dibandingkan dengan kambing umur muda.

Libido pejantan juga mempengaruhi volume semen yang diejakulasikan. Hasil penelitian Eskenazi *et al.* (2003) pada manusia menunjukkan bahwa volume semen menurun setiap tahun secara menerus, yang diduga berhubungan dengan penurunan libido. Ottinger (1998) menjelaskan bahwa menurunnya libido berhubungan dengan perubahan karakter ejakulat diantara pejantan. Sementara itu, pengaruh umur pada fungsi reproduksi pejantan sangat bervariasi, umur tua cenderung menunjukkan penurunan libido. Namun dalam

penelitian ini semen kambing dilampung menggunakan vagina buatan dan libido pejantan dikendalikan semaksimal mungkin, sehingga memberikan pengaruh yang kecil terhadap volume semen yang diejakulasikan

### **Konsentrasi Spermatozoa**

Konsentrasi spermatozoa dari semen kambing menurun seiring dengan bertambahnya umur kambing pada masa reproduksi. Perubahan konsentrasi spermatozoa pada kambing kacang menunjukkan perbedaan yang nyata antara kambing umur muda, sedang dan tua. Sebaliknya perubahan konsentrasi spermatozoa pada kambing peranakan etawah tidak menunjukkan perbedaan yang nyata antara kambing umur muda, sedang dan tua.

Menurut Evans and Maxwell (1987), konsentrasi spermatozoa dari semen kambing rata-rata terletak antara 1500-5000 juta spermatozoa per mililiter. Konsentrasi spermatozoa ini bervariasi diantara kambing yang mempunyai umur berbeda. Wildeus (1996) menjelaskan umur kambing berpengaruh terhadap konsentrasi spermatozoa dan total spermatozoa yang diejakulasikan.

Hasil yang sama ditunjukkan pada manusia, konsentrasi spermatozoa menurun secara signifikan saat melewati periode sepuluh tahun (Eskenazi *et al.*, 2003). Dua and Vaidya (1996) menjelaskan bahwa jumlah spermatozoa menurun sejalan dengan meningkatnya umur. Beragam penyebab patologi yang mempengaruhi jumlah spermatozoa dan parameter lain, mengakibatkan mekanisme kontrol menjadi terganggu.

Pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah, dengan bertambahnya umur kambing kemampuan testis dalam proses

spermatogenesis mengalami penurunan, sehingga produksi spermatozoa menjadi berkurang. Dalam keadaan ini ukuran testis dapat mempengaruhi proses spermatogenesis dan produksi spermatozoa. *Widit et al.* (1989) dan *Brown* (1997) menjelaskan bahwa menurunnya ukuran testis berhubungan dengan menurunnya sirkulasi testosteron dan spermatogenesis pada hewan domestik. Selanjutnya *Wolf et al.* (2000) menambahkan bahwa diameter tubulus seminiferus pada pejantan umur tua lebih kecil dibandingkan dengan pejantan umur lebih muda. Demikian juga tubulus epididimis pada pejantan umur tua lebih kecil dibandingkan dengan pejantan umur lebih muda.

Menurut *Dua and Vaidya* (1996) disfungsi gonad dapat menjadi penyebab menurunnya konsentrasi spermatozoa, yang dapat diklasifikasikan sebagai disfungsi pre testikular, testikular dan post testikular. Pada disfungsi pre testikular terjadi gangguan pusat endokrin di hipotalamus, disfungsi testikular terdapat problem kromosom dan disfungsi post testikular terjadi gangguan transport spermatozoa.

Penurunan konsentrasi spermatozoa juga bermubungan dengan keberadaan oksidan yang sangat reaktif. Produksi ROS melalui metabolisme sel di dalam testis pada kambing umur tua mengalami peningkatan, sementara aktivitas antioksidan yang memberikan perlindungan terhadap kehidupan sel di dalam testis mengalami penurunan. Akibatnya terjadi ketidakseimbangan antara pembentukan oksidan dan aktivitas antioksidan yang menimbulkan stres oksidatif. Selanjutnya stres oksidatif menyebabkan peroksidasi lipid, protein dan DNA dari sel-sel di dalam testis yang mengganggu proses spermatogenesis dan

produksi spermatozoa, sehingga menghasilkan konsentrasi spermatozoa yang rendah.

### **Motilitas Spermatozoa**

Motilitas merupakan kemampuan gerak maju individu spermatozoa di dalam lingkungan zat cair. Motilitas spermatozoa dari semen kambing menurun seiring dengan bertambahnya umur kambing pada masa reproduksi. Perubahan motilitas spermatozoa pada kambing kacang menunjukkan perbedaan yang nyata antara kambing umur muda, sedang dan tua. Demikian juga perubahan motilitas spermatozoa pada kambing peranakan etawah menunjukkan perbedaan yang nyata antara kambing umur muda, sedang dan tua.

Hasil penelitian Kelso *et al.* (1997) pada sapi menunjukkan bahwa terjadi penurunan motilitas spermatozoa dari semen sapi umur sedang dan tua secara signifikan. Demikian juga hasil penelitian Wolf *et al.*, (2000) pada musang menunjukkan bahwa umur muda dan sedang menghasilkan semen dengan jumlah spermatozoa motil tiap ejakulat yang lebih tinggi dan berbeda secara signifikan dengan umur tua. Hasil yang serupa juga didapatkan pada manusia, motilitas spermatozoa menurun secara menerus antara umur 22 tahun sampai 80 tahun (Eskenza *et al.*, 2003)

Pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah, dengan bertambahnya umur kambing terjadi penurunan suplai energi yang dihasilkan melalui metabolisme yang diperlukan untuk motilitas spermatozoa. Menurut Salisbury *and* Van Demark (1985), energi yang digunakan untuk pergerakan spermatozoa dihasilkan oleh perombakan ATP dalam selubung

mitokondria yang diaktifkan oleh enzim-enzim tertentu sehingga ikatan fosfat pertama yang mengandung banyak energi akan terurai, melepaskan energi, menghasilkan ADP dan AMP serta terbentuk fosfat anorganik. Energi yang dilepaskan kemudian dapat digunakan sebagai energi mekanik (motilitas) atau energi kimiawi (biosintesis) atau sewaktu-waktu dilepaskan sebagai panas bila tidak digunakan. Apabila pemberian senyawa fosfor sebagai energi pada ATP dan ADP habis, maka kontraksi fibril-fibril kontraktile spermatozoa akan terhenti dan spermatozoa tidak bergerak. Pada kambing umur tua energi yang dilepaskan untuk digunakan sebagai energi mekanik mengalami penurunan demikian juga pemberian senyawa fosfor sebagai energi pada ATP dan ADP berkurang sehingga kontraksi fibril-fibril kontraktile spermatozoa menurun. Akibatnya motilitas spermatozoa dalam semen yang berasal dari kambing umur tua mengalami penurunan.

Perkembangan fungsi testis juga mempengaruhi motilitas spermatozoa. Pada kambing umur tua perkembangan fungsi testis lebih jelek dibandingkan dengan kambing umur muda, sehingga menghasilkan ejakulat dengan motilitas spermatozoa yang lebih rendah serta struktur spermatozoa normal yang lebih kecil. Hubungan antara perubahan umur dengan penurunan fungsi testis telah dilaporkan pada tikus (Gosden *et al.*, 1982), mencit (Wright *et al.*, 1993), sapi (Kumi-Diaka *et al.*, 1981) dan manusia (Johnson *et al.*, 1984).

Penurunan motilitas spermatozoa juga berhubungan dengan keberadaan oksidan yang sangat reaktif di dalam semen. Produksi SOR melalui metabolisme spermatozoa pada kambing umur tua mengalami peningkatan, sementara aktivitas antioksidan yang memberikan perlindungan terhadap kehidupan



spermatozoa mengalami penurunan. Akibatnya terjadi ketidakseimbangan antara pembentukan oksidan dan aktivitas antioksidan yang menimbulkan stres oksidatif. Selanjutnya stres oksidatif menyebabkan peroksidasi lipid, protein dan DNA dari spermatozoa yang mengganggu proses metabolisme dan suplai energi yang diperlukan untuk pergerakan, sehingga menghasilkan motilitas spermatozoa yang rendah.

### **Persentase Hidup Spermatozoa**

Persentase hidup spermatozoa merupakan indikator kualitas semen yang penting untuk meningkatkan fertilisasi. Persentase hidup spermatozoa dari semen kambing menurun seiring dengan bertambahnya umur kambing pada masa reproduksi. Perubahan persentase hidup spermatozoa pada kambing kacang menunjukkan perbedaan yang nyata antara kambing umur muda, sedang dan tua. Sebaliknya perubahan persentase hidup spermatozoa pada kambing peranakan etawah tidak menunjukkan perbedaan yang nyata antara kambing umur muda, sedang dan tua.

Pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah, dengan bertambahnya umur kambing terjadi peningkatan gangguan dalam proses pendewasaan spermatozoa di dalam epididimis, sehingga lebih banyak dijumpai spermatozoa dengan bentuk prematur yang mempengaruhi kehidupan spermatozoa.

Penurunan persentase hidup spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah juga berhubungan dengan keberadaan oksidan yang sangat reaktif di dalam semen. Produksi SOR melalui

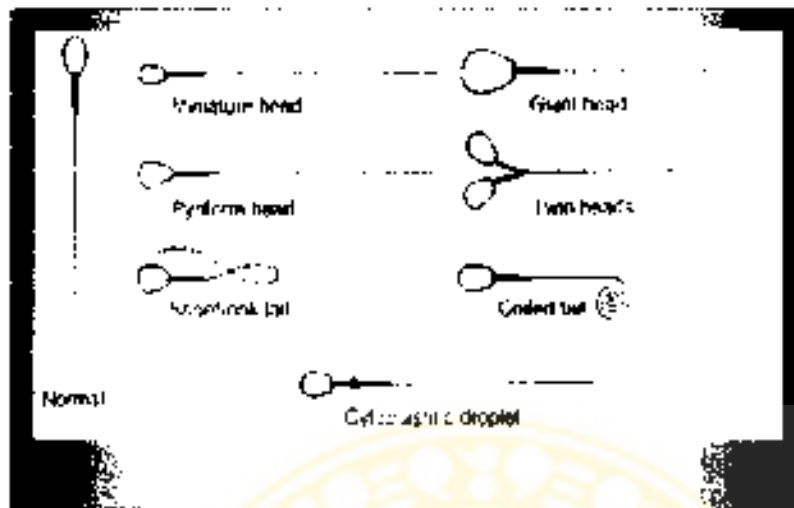
metabolisme spermatozoa pada kambing umur tua mengalami peningkatan, sementara aktivitas antioksidan yang memberikan perlindungan terhadap kehidupan spermatozoa mengalami penurunan. Akibatnya terjadi ketidakseimbangan antara pembentukan oksidan dan aktivitas antioksidan yang menimbulkan stres oksidatif. Selanjutnya stres oksidatif menyebabkan peroksidasi lipid, protein dan DNA dari spermatozoa yang mengganggu kehidupan sel dan dapat mengakibatkan kematian sel, sehingga menghasilkan persentase hidup spermatozoa yang rendah.

Cummins *et al.* (1994) menjelaskan bahwa penurunan jumlah spermatozoa hidup dianggap berhubungan dengan bentuk prematur spermatozoa dan penurunan ukuran testis yang menginduksi stres oksidatif, serta berpengaruh terhadap genom mitokondria yang mengontrol fosforilasi oksidatif.

### **Abnormalitas Spermatozoa**

Penyimpangan morfologik dari struktur spermatozoa yang normal dipandang sebagai abnormal. Abnormalitas spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah dapat terjadi pada bagian kepala atau ekor.

Abnormalitas pada bagian kepala dapat berupa kepala asimetris, kepala lonjong, kepala besar, kepala kecil dan kepala ganda. Sedangkan abnormalitas pada bagian ekor dapat berupa ekor patah, ekor melingkar, ekor ganda dan terdapat sitoplasmik droplet. Spermatozoa yang terbentuk abnormal, baik yang bersifat primer maupun sekunder tidak dapat membuahi ovum.



**Gambar 6.1 Beberapa bentuk abnormalitas spermatozoa (Toelihens, 1985).**

Abnormalitas spermatozoa kambing meningkat seiring dengan bertambahnya umur kambing selama masa reproduksi. Namun perubahan abnormalitas spermatozoa pada kambing kacang tidak menunjukkan perbedaan yang nyata antara kambing umur muda, sedang dan tua. Demikian juga perubahan abnormalitas spermatozoa pada kambing peranakan etawah tidak menunjukkan perbedaan yang nyata antara kambing umur muda, sedang dan tua.

Hasil penelitian Eskenazi *et al.* (2003) pada manusia menunjukkan bahwa abnormalitas spermatozoa meningkat secara signifikan setelah melewati masa sepuluh tahun. Oke *et al.* (2003) menambahkan bahwa gangguan sirkumferen scrotal yang banyak dijumpai pada umur tua mengakibatkan meningkatnya abnormalitas spermatozoa.

Menurut Wolf *et al.* (2000) struktur spermatozoa normal menurun dengan meningkatnya umur, penyebab utama adalah meningkatnya kerusakan flagella

dan residu sitoplasmik droplet. Sujant and Phopramool (1985) menjelaskan bahwa meningkatnya proporsi sitoplasmik droplet pada ejakulat jantan umur tua dihasilkan akibat gangguan proses maturasi dan perjalanan spermatozoa di epididimis yang dipercepat dan dihubungkan dengan keberadaan konsentrasi androgen rendah

Pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah, dengan bertambahnya umur kambing proses spermatogenesis di dalam testis kurang sempurna dan mengakibatkan abnormalitas spermatozoa. Menurut Johnsons (1989) beberapa bentuk abnormalitas spermatozoa dan infertilitas dipengaruhi oleh umur, yang dihubungkan dengan gangguan degenerasi pada testis. Hasil penelitian Wolf et al (2000) menunjukkan bahwa testis dari musang umur muda mengandung tubulus seminiferus aktif yang mengalami spermatogenesis dan spermiogenesis spermogonia, spermatosit primer, spermatid *round*, spermatid *elongated* dan spermatozoa yang diidentifikasi pada semua bagian preparat, serta epididimis yang mengandung penyimpanan spermatozoa. Sedangkan testis umur tua menampilkan tubulus seminiferus yang mengempis dan dibatasi oleh sel sertoli, spermatogenesis tidak lengkap tubulus seminiferus dan ouktus efferen tidak dijumpai adanya spermatozoa.

Peningkatan abnormalitas spermatozoa juga berhubungan dengan keberadaan oksidan yang sangat reaktif di dalam semen. Produksi SOR melalui metabolisme spermatozoa pada kambing umur tua mengalami peningkatan, sementara aktivitas antioksidan yang memberikan perlindungan terhadap kehidupan spermatozoa mengalami penurunan. Akibatnya terjadi ketidakseimbangan antara pembentukan oksidan dan aktivitas antioksidan yang

menimbulkan stres oksidatif. Selanjutnya stres oksidatif menyebabkan peroksidasi lipid, protein dan DNA dari spermatozoa dan menimbulkan kerusakan membran, sehingga menghasilkan abnormalitas spermatozoa yang tinggi.

Salisbury and Van Demark (1985) menyatakan bahwa pada keadaan meningkatnya peroksidasi lipid, pemeriksaan morfologi spermatozoa perlu dilakukan lebih lanjut untuk mengetahui kualitas spermatozoa. Dalam setiap ejakulat terdapat beberapa spermatozoa yang abnormal. Semen dengan proporsi abnormalitas yang tinggi memberikan hasil fertilitas yang rendah.

Meningkatnya proporsi spermatozoa dengan bentuk abnormal, termasuk spermatozoa dengan flagela bengkok yang dihubungkan dengan umur, juga telah dilaporkan pada manusia (Mladenovic et al. 1994) dan hamster (Ca'vo et al. 1997).

### **Integritas Membran Spermatozoa**

Membran sel memegang peranan penting dalam keutuhan struktur sistem biologi dan memberikan struktur dasar bagi sel. Integritas membran tidak hanya penting untuk metabolisme spermatozoa tetapi juga untuk perubahan-perubahan yang terjadi pada pertengkapan membran. Integritas membran spermatozoa dapat digunakan sebagai salah satu indikator untuk mengetahui kualitas dan fertilitas spermatozoa. Spermatozoa dengan membran plasma utuh ditandai dengan ekor yang membengkok setelah dipaparkan pada medium hiposmotik, sedangkan spermatozoa yang memiliki ekor yang lurus menunjukkan membran yang telah rusak (Salisbury and Van Demark, 1985).

Integritas membran spermatozoa dari semen kambing menurun seiring dengan bertambahnya umur kambing pada masa reproduksi. Perubahan integritas membran spermatozoa pada kambing kacang menunjukkan perbedaan yang nyata antara kambing umur muda, sedang dan tua. Demikian juga perubahan integritas membran spermatozoa pada kambing peranakan etawah menunjukkan perbedaan yang nyata antara kambing umur muda, sedang dan tua.

Penurunan integritas membran spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah, berhubungan dengan keberadaan oksidan yang sangat reaktif di dalam semen. Produksi SOR melalui metabolisme spermatozoa pada kambing umur tua mengalami peningkatan, sementara aktivitas antioksidan yang memberikan perlindungan terhadap kehidupan spermatozoa mengalami penurunan. Akibatnya terjadi ketidakseimbangan antara pembentukan oksidan dan aktivitas antioksidan yang menimbulkan stres oksidatif. Selanjutnya stres oksidatif menyebabkan peroksidasi lipid, protein dan DNA dan spermatozoa yang dapat mengakibatkan meningkatnya permeabilitas membran atau kerusakan membran spermatozoa, sehingga menghasilkan integritas membran spermatozoa yang rendah.

Kelso *et al.* (1997) menjelaskan bahwa dengan meningkatnya umur hewan terjadi penurunan proporsi fosfatidil etanolamin dan peningkatan fosfatidil kolin dari spermatozoa dan plasma semen yang mempengaruhi integritas membran spermatozoa.

Spermatozoa yang berasal dari umur kambing yang berbeda mempunyai sensitivitas berlainan terhadap kerusakan peroksidatif pada membran

spermatozoa. White (1993) menjelaskan bahwa faktor yang terpenting bagi spermatozoa untuk menangkal atau bertahan terhadap serangan peroksidatif adalah menangkap dan memutus reaksi berantai SOR melalui sistem antioksidan.

## **6.2 Perubahan Aktivitas Antioksidan dalam Semen pada Masa Reproduksi Kambing Kacang dan Kambing Peranakan Etawah.**

Surai (1995) menjelaskan bahwa aktivitas antioksidan sebagian besar diidentifikasi sebagai SOD, katalase, glutathion peroksidase dan tokoferol pada spermatozoa dan plasma semen. Antioksidan ini memberikan perlindungan terhadap peroksidasi lipid dan meningkatkan stabilitas spermatozoa. Dalam penelitian ini dijumpai perubahan aktivitas antioksidan, khususnya aktivitas SOD dan aktivitas katalase dari semen pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah.

### **Aktivitas SOD**

Aktivitas SOD total (Unit/ml semen) dan spesifik (Unit/mg protein) dari semen kambing menurun seiring dengan bertambahnya umur kambing pada masa reproduksi. Perubahan aktivitas SOD total (Unit/ml semen) dan spesifik (Unit/mg protein) pada kambing kacang menunjukkan perbedaan yang nyata antara kambing umur muda, sedang dan tua. Demikian juga perubahan aktivitas SOD total (Unit/ml semen) dan spesifik (Unit/mg protein) pada kambing peranakan etawah menunjukkan perbedaan yang nyata antara kambing umur muda, sedang dan tua

Penurunan aktivitas SOD dalam semen selama masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah berhubungan dengan menurunnya sintesis enzim SOD dari spermatozoa dalam semen pada kambing umur tua. Penurunan aktivitas SOD dapat juga terjadi karena menurunnya sintesis SOD dari kelenjar aksesoris pada kambing umur tua. Chen *et al.* (2003) menjelaskan bahwa sekresi kelenjar aksesoris kelamin jantan dapat melindungi integritas genom spermatozoa. Sekret kelenjar aksesoris ini mengandung enzim antioksidan (SOD, katalase, GPx dan GSHPx) yang melindungi spermatozoa terhadap SOR yang dapat menginduksi stres oksidatif. SOD dihasilkan oleh kelenjar koagulasi, sekresi kelenjar aksesoris ini mempunyai pengaruh signifikan dalam melindungi spermatozoa melawan stres oksidatif.

Menurunnya aktivitas SOD pada kambing umur tua dapat juga disebabkan oleh meningkatnya anion superoksida yang dihasilkan melalui metabolisme aerob, tanpa diimbangi pembentukan SOD. Menurut Argawal *et al.* (2003), proses metabolisme spermatozoa secara normal akan menghasilkan banyak SOR terutama anion superoksida. Fase inisiasi pembentukan SOR di dalam semen kambing telah berlangsung sejak semen ditampung dan saat kontak dengan oksigen di udara. Pembentukan SOR terjadi sangat cepat dan tanpa membutuhkan suatu energi. Fase propagasi atau perambatan pembentukan SOR juga telah berlangsung sejak penampungan semen, yang ditunjukkan oleh adanya penurunan integritas membran spermatozoa dari semen segar.

Kelso *et al.*, (1997) menjelaskan bahwa perubahan komposisi lemak dan penurunan asam lemak tidak jenuh pada spesies umur tua terjadi akibat



penurunan aktivitas enzim antioksidan dari plasma semen, termasuk di dalamnya enzim SOD. Peningkatan peroksidasi ini semakin menurunkan kemampuan mitokondria dan sitosol untuk sintesis enzim SOD.

Menurunnya aktivitas SOD dapat juga terjadi karena adanya sitoplasmik droplet pada spermatozoa yang disebabkan spermiasi tidak sempurna pada testis dari kambing umur tua. Peroksidasi lipid dan anomali *midpiece* spermatozoa saling berhubungan (Rao *et al.*, 1989) dan peningkatan peroksidasi lipid serta aktivitas kreatinkinase dalam spermatozoa yang tidak sempurna menyebabkan ekstrusi sitoplasmik tidak lengkap pada akhir spermatogenesis (Huszar *and* Vigue, 1994).

Aktivitas SOD dapat juga mengalami penurunan akibat degenerasi sel bakal spermatozoa yang difagositosis oleh sel sertoli dan menghasilkan akumulasi lemak yang meningkat bersamaan dengan meningkatnya umur pejantan. Meningkatnya lipofusin dan lemak secara intraseluler, memberikan petunjuk adanya disfungsi mitokondria yang dihubungkan dengan stres oksidatif pada pejantan umur tua. Perubahan degeneratif ini pada gonad dihubungkan dengan akumulasi pigmen lipofusin dan dianggap sebagai peroksidasi lipid yang diinduksi oleh SOR dengan meningkatnya umur pejantan (Sikka, 1996).

Menurut Zielinski *and* Portner (2000) perubahan aktivitas enzim antioksidan dengan meningkatnya umur tidak sama antara satu dengan lainnya. Aktivitas SOD menurun dengan bertambahnya umur, tetapi aktivitas enzim antioksidan yang lain mungkin tidak mengalami penurunan. Selanjutnya dijelaskan bahwa rendahnya pertahanan antioksidan dengan meningkatnya

umur, menginduksi terbentuknya MDA dan lipofusin sebagai produk dan adanya peroksidasi lipid

### **Aktivitas Katalase**

Aktivitas katalase total (Unit/ml semen) dan spesifik (Unit/mg protein) dari semen kambing menurun seiring dengan bertambahnya umur kambing pada masa reproduksi. Perubahan aktivitas katalase total (Unit/ml semen) dan spesifik (Unit/mg protein) pada kambing kacang menunjukkan perbedaan yang nyata antara kambing umur muda, sedang dan tua. Demikian juga perubahan aktivitas katalase total (Unit/ml semen) dan spesifik (Unit/mg protein) pada kambing peranakan etawah menunjukkan perbedaan yang nyata antara kambing umur muda, sedang dan tua.

Faktor umur berpengaruh terhadap penurunan aktivitas enzim antioksidan (Devi and Kiran, 2003). Penurunan aktivitas katalase dari semen selama masa reproduksi kambing kacang dan peranakan etawah, berhubungan dengan menurunnya sintesis enzim katalase dari spermatozoa dalam semen pada kambing umur tua. Penurunan aktivitas katalase dapat juga terjadi karena menurunnya sintesis enzim katalase dari kelenjar aksesoris pada kambing umur tua. Menurut Zini *et al.* (2000) testis bukan merupakan sumber penting dari enzim SOD dan katalase dalam semen. Enzim antioksidan dalam semen terutama berasal dari post testikular. Selanjutnya Chen *et al.* (2003) menjelaskan bahwa sekret kelenjar aksesoris ini mengandung enzim antioksidan katalase yang melindungi spermatozoa dari peroksidasi lipid. Enzim katalase berasal dari

kelenjar ampulla, sekresi kelenjar asesoris ini mempunyai pengaruh signifikan dalam melindungi spermatozoa melawan stres oksidatif.

Menurut Yeung *et al* (1998), terdapat hubungan yang kuat antara aktivitas enzim antioksidan dan *marker* kelenjar asesoris, yang menunjukkan sebagian besar enzim berasal dari kelenjar asesoris. Namun aktivitas enzim katalase mempunyai hubungan yang lemah dengan kelenjar asesoris dan dapat diartikan bahwa enzim katalase berasal dari multi glandular. Twigg *et al*. (1998) menjelaskan bahwa epididimis mensintesis secara spesifik semua enzim antioksidan. Penambahan aktivitas katalase mempunyai potensi melindungi spermatozoa dari stres oksidatif.

Menurunnya aktivitas katalase dengan bertambahnya umur pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah, dapat juga disebabkan oleh meningkatnya hidrogen peroksida yang dihasilkan melalui reaksi dismutasi oleh SOD tanpa diimbangi dengan pembentukan enzim katalase. Belleville-Nabet (1996) menjelaskan bahwa pada kondisi aerob SOR banyak terbentuk pada mitokondria selama proses metabolisme. Saat oksigen mengalami reduksi dalam rangkaian transport elektron dan proses ini menghasilkan anion superoksida dan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) sebagai hasil antara atau hasil metabolisme asam amino tertentu.

Menurut Wolf *et al* (2000) umur dan kondisi lingkungan dapat menginduksi stres oksidatif. Stres oksidatif yang terjadi karena tidak adanya keseimbangan antara SOR dan aktivitas antioksidan, termasuk di dalamnya aktivitas katalase yang memberikan perlindungan terhadap spermatozoa, dapat mengakibatkan peroksidasi lipid, protein dan DNA pada pejantan umur tua.

Abnormalitas sel sertoli dapat menjadi pusat kegagalan perkembangan spermatogenesis melalui spermiasi yang salah dan kemungkinan dihubungkan dengan stres oksidatif dan umur pejantan (Wolf et al., 2000) yang berpengaruh terhadap aktivitas katalase. Demikian juga menurunnya vaskularisasi pada umur tua, meningkatkan kegagalan spermatogenesis dan mengurangi spermatozoa yang keluar dan terjadi bervariasi diantara spesies hewan dan manusia (Kerr, 1992).

### **6.3 Perbedaan Karakter Ejakulat dan Aktivitas Antioksidan antara Kambing Kacang dan Kambing Peranakan Etawah**

Karakter ejakulat dan aktivitas antioksidan secara spesifik berbeda diantara bangsa-bangsa kambing. Kambing yang mempunyai bentuk fisik dan ukuran badan lebih besar cenderung menghasilkan karakter ejakulat yang lebih baik, terutama dari segi kuantitas. Wildeus (1995) menjelaskan bahwa berat badan dan sirkumferensi skrotal berbeda signifikan antara bangsa kambing myotonik, kambing pygmy, kambing nubian dan kambing spanish. Perbedaan ini menggambarkan adanya keragaman karakter ejakulat yang dihasilkan antara bangsa-bangsa kambing.

Pada penelitian ini dijumpai adanya perbedaan karakter ejakulat dan aktivitas antioksidan antara kambing kacang dan kambing peranakan etawah. Volume semen kambing kacang lebih rendah dibandingkan dengan kambing peranakan etawah, baik pada umur muda, sedang maupun tua. Demikian juga konsentrasi spermatozoa kambing kacang lebih rendah dibandingkan dengan kambing peranakan etawah, baik pada umur muda, sedang maupun tua.

Menurut Wildeus (1995), bangsa kambing berpengaruh terhadap volume, konsentrasi spermatozoa dan total spermatozoa yang diejakulasikan. Toelihere (1985) menjelaskan bahwa volume semen tiap ejakulat berbeda menurut jenis, bangsa dan ukuran badan pejantan. Sementara Evans and Maxwell (1987) menjelaskan bahwa konsentrasi spermatozoa bervariasi diantara bangsa-bangsa kambing. Selanjutnya Yanis *et al.* (2002) menambahkan bahwa volume semen dan konsentrasi spermatozoa berbeda pada masing-masing spesies.

Motilitas spermatozoa kambing kacang pada umur sedang lebih rendah dibandingkan dengan kambing peranakan etawah, tetapi pada umur muda dan tua motilitas spermatozoa tidak berbeda nyata antara kambing kacang dan kambing peranakan etawah. Persentase hidup spermatozoa tidak berbeda nyata antara kambing kacang dan kambing peranakan etawah, baik pada umur muda, sedang maupun tua. Abnormalitas spermatozoa tidak berbeda nyata antara kambing kacang dan kambing peranakan etawah, baik pada umur muda, sedang maupun tua. Integritas membran spermatozoa kambing kacang pada umur sedang dan tua lebih rendah dibandingkan kambing peranakan etawah, tetapi pada umur muda integritas membran spermatozoa tidak berbeda nyata antara kambing kacang dan kambing peranakan etawah. Perbedaan performan antara kambing kacang dan kambing peranakan etawah memberikan keragaman motilitas, persentase hidup, abnormalitas dan integritas membran spermatozoa yang bersifat spesifik.

Aktivitas SOD total (Unit/ml semen) dan spesifik (Unit/mg protein) kambing kacang lebih tinggi dibandingkan dengan kambing peranakan etawah, baik pada umur muda, sedang maupun tua. Sebaliknya aktivitas katalase total

(Unit/ml semen) dan spesifik (Unit/mg protein) kambing kacang lebih rendah dibandingkan dengan kambing peranakan etawah, baik pada umur muda, sedang maupun tua. Keadaan ini menunjukkan bahwa komponen-komponen antioksidan mempunyai aktivitas bervariasi antara bangsa-bangsa kambing. Spermatozoa yang berasal dari bangsa kambing kacang dan kambing peranakan etawah mempunyai sensitifitas berlainan terhadap kerusakan peroksidatif pada membran spermatozoa yang berhubungan dengan aktivitas antioksidan.

#### **6.4 Mekanisme Perubahan Karakter Ejakulat melalui Pendekatan Antioksidan pada Masa Reproduksi Kambing Kacang dan Kambing Peranakan Etawah**

Perubahan karakter ejakulat pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah, dapat dijelaskan melalui pendekatan aktivitas antioksidan, yang melibatkan pembentukan oksidan, sistem antioksidan, stres oksidatif dan peroksidasi lipid.

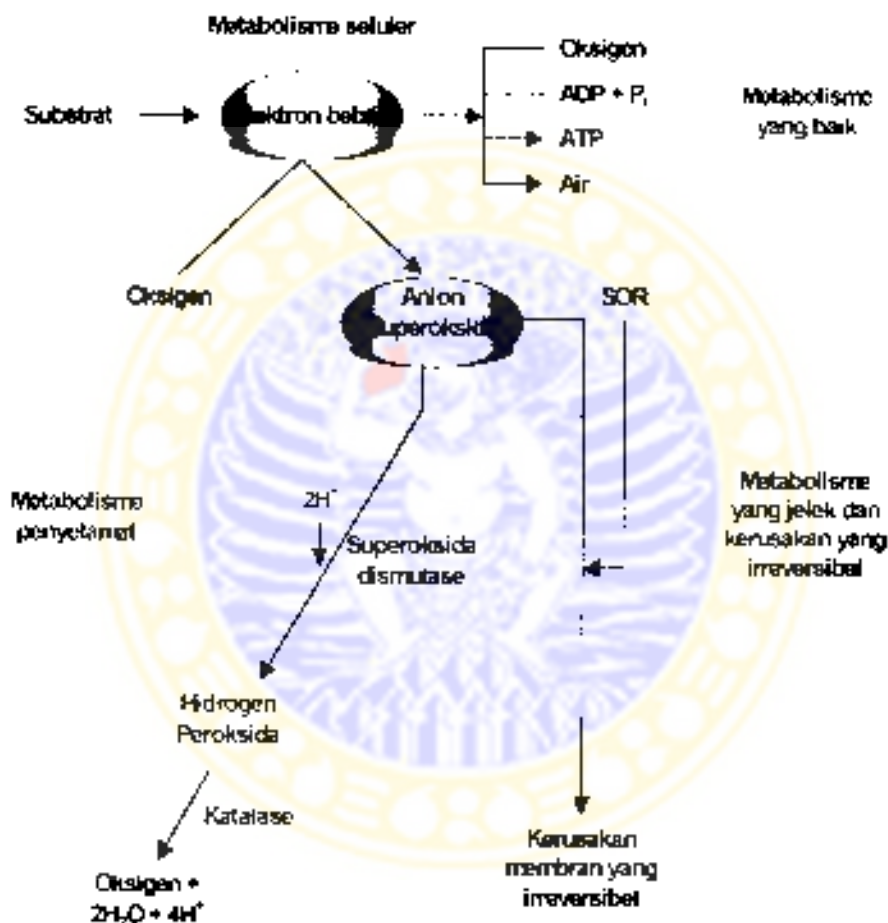
Sebagian besar organisme memerlukan oksigen untuk keperluan hidupnya, oksigen dapat dikonversi dalam bentuk radikal bebas yang sangat reaktif. Metabolisme sel menggunakan oksigen sebagai akseptor elektron pusat dalam proses yang menggunakan elektron bebas sebagai perantara esensial. Pada kondisi keberadaan oksigen yang berlebihan, dapat terjadi reaksi oksigen dengan elektron bebas membentuk anion superoksida yang merupakan oksidan atau senyawa oksigen yang sangat reaktif. Toksisitas oksigen ini dapat merusak bentuk sel hidup aerobik, termasuk spermatozoa. Pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah, terjadi peningkatan

pembentukan oksidan dari spermatozoa seiring dengan bertambahnya umur kambing

Menurut Sikka (1996), SOR merupakan oksidan yang sangat reaktif, sebagian termasuk dalam radikal bebas. Radikal bebas merupakan gabungan (tidak selalu derivat dari oksigen) yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. SOR yang dapat memberikan implikasi terhadap biologi reproduksi, meliputi anion superoksida, hidrogen peroksida, radikal peroksil dan radikal hidroksi, yang sangat reaktif. Derivat radikal bebas nitrogen yaitu nitrit, oksida dan anion nitrit peroksil juga berpengaruh signifikan terhadap reproduksi dan fertilisasi. Hidrogen peroksida mempunyai efek yang merugikan terhadap spermatozoa dan dapat mempengaruhi fertilisasi. SOR dihubungkan dengan stres oksidatif dan berpengaruh signifikan terhadap reproduksi.

Dalam keadaan normal, semen mengandung mekanisme antioksidan yang memadamkan serangan SOR dan melindungi kerusakan spermatozoa. Antioksidan, secara umum merupakan gabungan dari reaksi yang mengatur, melawan dan menekan formasi SOR. Ada bermacam-macam antioksidan biologis dan kimia yang menyerang SOR dan peroksidasi lipid. Keragaman mekanisme pertahanan untuk melindungi spermatozoa dari serangan SOR, meliputi enzim antioksidan (SOD, katalase, glutathion peroksidase dan glutathion reduktase), vitamin (E, C dan karotenoid) dan biomolekul (glutathion dan ubiquinol) terlibat dalam sistem biologi (Ernster, 1993). Antioksidan dalam jumlah tertentu efektif memutus rantai reaksi peroksidasi di dalam membran sel sehingga memotong peroksida lipid pada jalur reaksi peroksidasi lipid.

Aktivitas SOD dan katalase mempunyai pengaruh signifikan terhadap kualitas spermatozoa Menurut Alvarez *et al* (1987). SOD dan katalase secara langsung bekerja sebagai enzim antioksidan yang terlibat dalam menghambat peroksidasi lipid spermatozoa.



**Gambar 6.2** Skema hubungan antara metabolisme seluler dan peroksidasi lipid yang melibatkan aktivitas SOD dan katalase (Hammerstedt, 1993).

Menurut Hammerstedt (1993), mekanisme seluler secara aerob menghasilkan ATP (metabolisme yang baik) yang tergantung pada elektron



bebas. Reaksi elektron ini dengan oksigen dapat menghasilkan anion superoksida yang bisa bereaksi lagi dengan oksidan yang lain dan dapat menyebabkan kerusakan sel (metabolisme yang jelek dan kerusakan yang tidak dapat dipulihkan seperti semula). Sel yang memiliki SOD dan katalase dalam jumlah yang cukup dapat menghilangkan anion superoksida (metabolisme penyelamat) dan meminimalkan kerusakan peroksidatif.

Peran SOD sebagai antioksidan dalam biologi reproduksi memproteksi spermatozoa dalam melawan toksisitas oksigen dan peroksidasi lipid secara spontan. Menurut Liu (1996), reaksi katalisis SOD berlangsung sangat cepat, keberadaan enzim ini dalam sel dan jaringan secara spesifik berfungsi menekan konsentrasi anion superoksida menjadi sangat rendah. Selanjutnya Maier and Chan (2002) menjelaskan bahwa jumlah SOD intraseluler dan ekstraseluler secara krusial diperlukan untuk pencegahan penyakit yang dihubungkan dengan stres oksidatif.

Aktivitas SOD dan katalase secara esensial berperan sebagai antioksidan yang disintesis secara lengkap dalam sistem biologi (Rajasekaran *et al.*, 1995). Selama masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah, sintesis SOD dan katalase mengalami penurunan seiring dengan meningkatnya umur, sementara pembentukan oksidan semakin meningkat sehingga dapat menimbulkan keadaan stres oksidatif.

Stres oksidatif adalah kondisi yang dihubungkan dengan peningkatan kerusakan sel yang diinduksi oleh oksigen dan oksidan derivat oksigen yang dikenal sebagai SOR. Stres oksidatif berpengaruh terhadap fertilitas, dan untuk meniadakan pengaruhnya terhadap jaringan reproduksi, diperlukan antioksidan.

Menurut Sikka *et al* (1995), meningkatnya stres oksidatif disebabkan oleh sistem *scavenger* kurang baik dan dapat dimodulasi oleh peningkatan umur pejantan. Keseimbangan ini dapat mengarah pada status stres oksidatif yang mempunyai pengaruh kritis terhadap kerusakan spermatozoa dan infertilitas.

Keseimbangan antara SOR dan antioksidan tampak diperlukan untuk kelangsungan hidup dan fungsi normal spermatozoa. Dalam beberapa sistem biologi kompleks termasuk semen, SOR berpengaruh terhadap reflek stres oksidatif yang dalam keadaan normal relatif seimbang antara pembentukan SOR dan *scavenger* SOR. Secara teoritis, kerusakan dalam semen merupakan hasil keseimbangan yang tidak tepat antara pembentukan SOR dan aktivitas *scavenger*.

Dalam keadaan normal, terdapat keseimbangan yang tepat diantara prooksidan dan antioksidan. Pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah, keseimbangan SOR dan sistem antioksidan dalam semen bergeser ke kiri seiring dengan meningkatnya umur kambing. Keseimbangan SOR dan sistem antioksidan yang bergeser ke kiri mengarah prooksidan dalam semen dapat menginduksi stres oksidatif pada spermatozoa.

Stres oksidatif melalui reaksi berantai SOR dapat menimbulkan kerusakan membran spermatozoa akibat adanya peroksidasi lipid. Selanjutnya Darley-Usmar *et al.* (1995) menjelaskan bahwa di dalam spermatozoa produksi MDA (*malondialdehyde*) merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid yang diinduksi oleh promotor ion ferrous.

Peroksidasi dapat juga mengakibatkan kerusakan DNA dan protein, melalui oksidasi dasar DNA (guanin utama melalui lipid peroksid atau radikal

alkoksi) atau melalui ikatan kovalen dengan MDA yang menghasilkan *strand breaks* dan *cross-linking* (Ernster, 1993). Aitken *et al.*, (1994) menjelaskan bahwa SOR dapat menginduksi kelompok -SH kritis dari protein dan DNA yang akan mengubah struktur dan fungsinya.

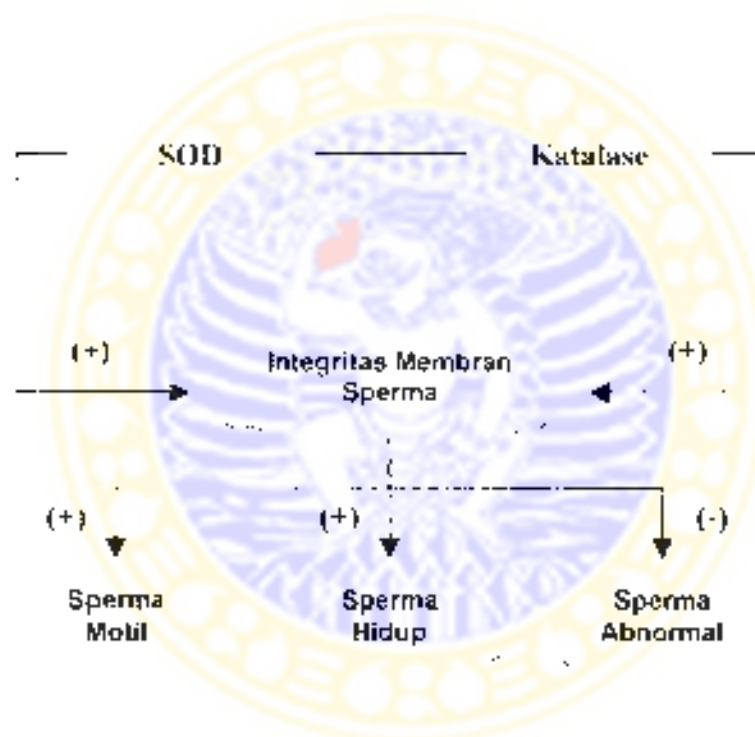
Kerusakan oksidatif terhadap mitokondria DNA dapat terjadi pada semua sel aerobik, termasuk juga spermatozoa. Perubahan mitokondria DNA atau perubahan membran yang mengatur fungsi spermatozoa berhubungan dengan perubahan fosforilasi protein. Secara umum oksidasi dapat meningkatkan fosforilasi tirosin dengan mempertinggi fungsi spermatozoa dan mengurangi kondisi yang memberikan efek berlawanan (Sikka, 1996).

Disfungsi mitokondria dapat menyebabkan terjadinya kerusakan seperti degradasi mitokondria, pembesaran organel dan perubahan fungsi fosforilasi oksidatif yang memberikan kontribusi timbulnya SOR (Heine *et al.*, 2003). Stres oksidatif terjadi akibat adanya SOR, yang berpotensi merusak molekul-molekul yang kekurangan elektron stabil. Akumulasi di dalam tubuh dapat mengakibatkan aktivitas antioksidan menjadi rendah (Pasqualotto *et al.*, 2000).

Peroksidasi lipid akibat menurunnya aktivitas SOD dan katalase melalui sistem antioksidan pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah, dapat menjadi penyebab utama penurunan beberapa parameter kualitas semen. Integritas membran spermatozoa merupakan indikator parameter kualitas spermatozoa yang mengindikasikan adanya kerusakan membran akibat menurunnya proteksi antioksidan. Selanjutnya meningkatnya kerusakan oksidatif membran spermatozoa yang diindikasikan

sebagai meningkatnya peroksidasi lipid, protein dan DNA dihubungkan dengan kerusakan mekanisme transduksi sinyal yang mempengaruhi fertilitas

Pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah dengan berlambahnya umur kambing terjadi penurunan aktivitas SOD dan katalase, yang mengakibatkan menurunnya integritas membran spermatozoa dan berpengaruh terhadap motilitas, persentase hidup dan abnormal spermatozoa, yang digambarkan dalam skema berikut ini.



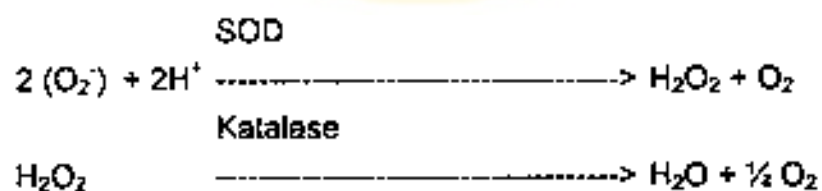
**Gambar 6.3** Alur perubahan karakter ejakulat melalui pendekatan aktivitas antioksidan pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah.

#### 6.4.1 Pengaruh Aktivitas Antioksidan terhadap Integritas Membran Spermatozoa

Aktivitas SOD dan katalase berpengaruh positif terhadap integritas membran spermatozoa dalam semen selama masa reproduksi kambing kacang

dan kambing peranakan etawah. Semakin tinggi aktivitas SOD dan katalase semakin tinggi integritas membran spermatozoa dalam semen kambing, sebaliknya semakin rendah aktivitas SOD dan katalase semakin rendah integritas membran spermatozoa dalam semen kambing. Aktivitas SOD dan katalase melalui sistem antioksidan melindungi spermatozoa terhadap SOR yang menginduksi peroksidasi lipid dan mempengaruhi integritas membran spermatozoa.

Menurut Chen and Pan (1996) anion superoksida dihasilkan sebagai produk organisme aerobik dari sejumlah reaksi fisiologi melalui aliran elektron dalam mitokondria serta dari beberapa reaksi reduksi-oksidasi di dalam sel. Anion superoksida ini dapat bereaksi dengan hidrogen peroksida yang menghasilkan radikal hidroksil dan merupakan molekul yang sangat reaktif di dalam sel hidup. Selanjutnya Sikka *et al.* (1995) menjelaskan bahwa SOD bekerja secara spontan mendismutasi anion superoksida menjadi oksigen dan hidrogen peroksida, sementara katalase mengubah hidrogen peroksida menjadi oksigen dan air.



SOD dan katalase juga mengubah anion superoksida yang dibentuk oleh NADPH-oksidase, serta berperan penting mempengaruhi penurunan peroksidasi lipid dan memproteksi spermatozoa (Aitken *et al.*, 1995).

Perlindungan membran spermatozoa dari kerusakan akibat peroksidasi lipid, tergantung pada kekuatan enzim antioksidan di dalam tubuh seperti SOD, katalase, glutathion peroksidase dan reduktase (Pasqualatto *et al.*, 2000) yang bekerja dalam suatu keseimbangan. Meningkatnya aktivitas SOD dalam kondisi tanpa katalase mengakibatkan bertahannya radikal hidroksil yang berasal dari hydrogen peroksida (Fleck *et al.*, 2003).

Katalase mencegah kerusakan membran akibat SOR (Miesel *et al.*, 1997) yang dapat dijumpai pada spermatozoa dan plasma semen. Sistem ini mempunyai aktivitas secara langsung sebagai antioksidan dan menghambat peroksidasi lipid (Dandekar *et al.*, 2002). Dalam beberapa kasus, suplementasi SOD dan katalase dapat memberikan kontribusi besar untuk mencegah peroksidasi lipid membran spermatozoa oleh SOR (Tiziana *et al.*, 2001).

Menurut Sikka *et al.* (1995) keadaan dimana terjadi keseimbangan SOR yang bergeser ke kiri mengarah pada prooksidan yang menimbulkan kelebihan SOR atau kekurangan antioksidan, diklasifikasikan sebagai keadaan status stres oksidatif positif. Selanjutnya stres oksidatif menginduksi terjadinya peroksidasi lipid dan menurunkan integritas membran spermatozoa.

Peroksidasi lipid merupakan suatu peristiwa yang penting sebagai manifestasi aktivitas oksigen dalam sistem biologi. Pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah, penurunan aktivitas SOD dan katalase seiring bertambahnya umur kambing akan diikuti dengan meningkatnya peroksidasi lipid dan menurunkan integritas membran spermatozoa. Menurut Alvarez *et al.* (1987), peroksidasi lipid pada membran spermatozoa dianggap

sebagai mekanisme kunci dari kerusakan spermatozoa yang diinduksi oleh SOR yang berpengaruh terhadap infertilitas

Peroksidasi merupakan suatu proses tersembunyi yang sangat aktif dan reaktif mengakibatkan kerusakan membran, yang memberikan dampak tidak berangsungnya metabolisme sel. Kerusakan membran ini disebabkan oleh goyahnya dan hilangnya asam lemak esensial penyusun fosfolipid membran akibat terkatnya elektron hidrogen asam lemak tidak jenuh penyusun membran plasma melalui reaksi sebagai berikut :



Hasil antara reaksi berantai peroksidasi berupa radikal lipid peroksil ( $\text{LOO}^\bullet$ ) hanya dapat dihentikan oleh antioksidan yang mempunyai kemampuan memutus reaksi berantai. Pada spermatozoa domba, efek peroksidasi menyebabkan hilangnya motilitas yang permanen, penghambatan fruktolisis dan respirasi, pelepasan enzim intraseluler dan kerusakan struktur membran terutama bagian akrosom (White, 1993).

Konsentrasi MDA dan lipofusin ditentukan sebagai indikator peroksidasi lipid (Zielinski *and* Portner, 2000). Kerapuhan membran ditandai dengan meningkatnya konsentrasi MDA dan lipofusin. Peroksidasi juga dapat mengakibatkan peningkatan permeabilitas membran (Dandekar *et al.*, 2002) sehingga integritas membran mengalami penurunan.

Integritas membran spermatozoa tidak hanya penting untuk metabolisme sel tetapi juga perubahan-perubahan tertentu dalam komponen membran

terutama untuk proses fertilisasi. Menurut Valcarcel *et al.* (1994), kerusakan integritas membran spermatozoa merupakan indikasi kerusakan terbesar dari fungsi yang hilang. Kerusakan membran spermatozoa akan menyebabkan hilangnya motilitas dan kemampuan spermatozoa untuk fertilisasi karena lepasnya komponen seluler dan inaktivasi protein-protein enzim penting di dalam akrosom

#### 6.4.2 Pengaruh Integritas Membran terhadap Motilitas Spermatozoa

Integritas membran berhubungan positif dengan motilitas spermatozoa dalam semen selama masa reproduksi kambing kacang maupun kambing peranakan etawah. Semakin tinggi integritas membran semakin tinggi motilitas spermatozoa dalam semen kambing, sebaliknya semakin rendah integritas membran semakin rendah motilitas spermatozoa dalam semen kambing.

Aktivitas SOD dan katalase melalui sistem antioksidan melindungi kerusakan membran spermatozoa akibat peroksidasi lipid, yang mempengaruhi suplai energi untuk pergerakan spermatozoa. Yeung *et al.* (1998) menjelaskan bahwa ada hubungan antara aktivitas enzim antioksidan dengan integritas membran yang mempengaruhi motilitas spermatozoa di dalam semen. Selanjutnya Alvarez *et al.* (1987) menegaskan bahwa enzim SOD dan katalase dalam semen mempunyai hubungan positif dengan integritas membran dan motilitas spermatozoa.

Spermatozoa menggunakan oksigen dalam proses metabolisme selama pematangan untuk mengoksidasi bahan pokok dan menghasilkan energi untuk aktivitasnya. Oksidasi berarti pengikatan oksigen oleh suatu senyawa kimia.



Oksigen sangat esensial dalam proses oksidasi dan metabolisme sel namun oksigen yang berlebihan tanpa diimbangi meningkatnya aktivitas enzim antioksidan dapat menyebabkan terjadinya kerusakan peroksidatif (Hammerstedt, 1993). Iwasaki dan Gagnon (1992) menjelaskan bahwa keberadaan SOR dengan konsentrasi tinggi dan aktivitas antioksidan yang rendah dihubungkan dengan menurunnya integritas membran dan motilitas spermatozoa, sebaliknya motilitas spermatozoa yang rendah, dijumpai adanya SOR dengan konsentrasi tinggi dan aktivitas antioksidan yang rendah.

Menurut Aitken *et al* (1995), stimulasi pembentukan SOR yang membebaskan NADPH endogen pada spermatozoa manusia dapat mengatur reaksi akrosom melalui fosforilasi tirosin. Selanjutnya Cummins *et al.* (1994) menjelaskan bahwa status reduksi-oksidasi dari spermatozoa mempengaruhi fosforilasi dan pembentukan ATP yang sangat diperlukan untuk pergerakan spermatozoa. Pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah, pembentukan SOR meningkat seiring dengan bertambahnya umur kambing yang diikuti dengan menurunnya aktivitas SOD dan katalase, mengakibatkan menurunnya integritas membran spermatozoa yang mempengaruhi fosforilasi dan pembentukan ATP yang sangat diperlukan untuk pergerakan spermatozoa.

Membran spermatozoa mamalia kaya dengan asam lemak tidak jenuh jamak dan sangat rentan terhadap SOR yang dapat menimbulkan penurunan integritas membran akibat peroksidasi lipid (Sikka, 1996) dan menghasilkan motilitas spermatozoa rendah, yang disebabkan oleh menurunnya ATP intraseluler dengan cepat (De Lamrande *and* Gagnon, 1992).

Motilitas spermatozoa berkaitan dengan tingkat kerusakan membran plasma. Penurunan proteksi antioksidan melalui sistem antioksidan SOD dan katalase memberikan efek yang merugikan pada fungsi glikolipid yang dapat menyebabkan penggunaan lemak eksogen untuk fungsi metabolik spermatozoa dan kerusakan membran plasma. Keberadaan substrat glikolipid baik berupa lemak endogen maupun eksogen, berperan secara substansial mempengaruhi suplai energi untuk motilitas dan viabilitas spermatozoa (Mann *et al.*, 1980, Griveau, 1995).

Aplikasi *scavenger* SOR (aktivitas antioksidan SOD dan katalase) dapat memperbaiki motilitas dan fungsi spermatozoa. Seiring dengan menurunnya aktivitas antioksidan SOD dan katalase di dalam semen berhubungan dengan menurunnya motilitas dan infertilitas spermatozoa (Gagnon *et al.*, 1991). Lenzi *et al.* (1994) menjelaskan bahwa SOD dan katalase secara langsung berperan sebagai enzim antioksidan yang terlibat dalam menghambat peroksidasi lipid dan mempertahankan integritas membran spermatozoa. Mekanisme antioksidan ini penting untuk memelihara motilitas spermatozoa, hiperaktivasi dan kemampuan spermatozoa untuk mengadakan reaksi akrosom selama berada dalam plasma semen.

Menurut White (1993) peroksidasi lipid dapat terjadi sebagai hasil reaksi berantai dari SOR dengan fosfolipid membran. Peroksidasi merupakan proses yang sangat berbahaya karena sangat aktif merusak spermatozoa dan membentuk produk yang toksik. Kejadian peroksidasi lipid dapat menyebabkan hilangnya motilitas spermatozoa secara permanen yang disebabkan karena rusaknya atau goyahnya hubungan membran plasma. Kerusakan membran

plasma spermatozoa menyebabkan terhentinya proses metabolisme untuk menghasilkan energi karena keluar dan terbebasnya enzim-enzim yang diperlukan dalam metabolisme. Berbagai enzim yang diperlukan untuk metabolisme terletak pada bagian tengah spermatozoa sehingga rusaknya membran dapat melepaskan berbagai enzim yang diperlukan dalam produksi energi untuk pergerakan.

Penurunan integritas membran spermatozoa seiring dengan bertambahnya umur pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah, mengakibatkan penurunan motilitas spermatozoa. Niwa *et al.*, (1998) menjelaskan bahwa aktivitas antioksidan seperti SOD dan katalase dapat melindungi integritas membran dan mengembalikan penurunan aktivitas spermatozoa dalam plasma semen.

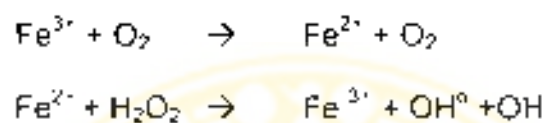
#### **6.4.3 Pengaruh Integritas Membran terhadap Persentase Hidup Spermatozoa**

Integritas membran berpengaruh positif terhadap persentase hidup spermatozoa dalam semen selama masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah. Semakin tinggi integritas membran semakin tinggi persentase hidup spermatozoa dalam semen kambing. Sebaliknya semakin rendah integritas membran semakin rendah persentase hidup spermatozoa dalam semen kambing. Aktivitas SOD dan katalase melalui sistem antioksidan melindungi kerusakan membran spermatozoa akibat peroksidasi lipid, yang mempengaruhi kehidupan sel spermatozoa.

Membran spermatozoa mamalia kaya dengan asam lemak tidak jenuh jamak dan sangat rentan terhadap SOR yang dapat mengakibatkan kerusakan membran spermatozoa (Sikka, 1996) dan menurunnya viabilitas spermatozoa (Lamirande and Gagnon, 1992). Menurut Miller and Slebodzinska (1993), SOR atau metabolit oksigen reaktif merupakan suatu proses metabolisme normal yang tidak dapat dihindari. Sebenarnya SOR tidak selalu membahayakan, namun keseimbangan antara produksi SOR dengan pembuangan oleh suatu sistem antioksidan di dalam tubuh untuk menjaga keamanan dan keutuhan sel akibat reaksi oksidasi dan peroksidasi lipid perlu dipelihara. Sikka *et al.* (1995) menjelaskan bahwa peningkatan produksi SOR dapat menghambat kerja enzim antioksidan atau menurunnya enzim antioksidan yang menyebabkan meningkatnya stres oksidatif. Keadaan ini menimbulkan peroksidasi lipid yang mengakibatkan menurunnya integritas membran, sehingga membran spermatozoa menjadi goyah dan dapat menimbulkan kematian sel.

Pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah, terjadi penurunan aktivitas SOD dan katalase seiring dengan bertambahnya umur kambing. Sementara dalam metabolisme spermatozoa, pembentukan SOR yang membahayakan kehidupan sel dapat terjadi. Pada semen sapi, SOR dapat bersumber dari spermatozoa yang telah mati (Upreti *et al.*, 1997), demikian juga pada domba (Upreti *et al.*, 1994). Sel yang rusak atau mati dapat melepaskan logam besi yang akan mendegradasi hidrogen peroksida hasil metabolisme dan menghasilkan suatu radikal hidroksil yang sangat reaktif (Rungkat and Zakaria, 1996), dan mengakibatkan penurunan integritas membran yang berpengaruh terhadap persentase hidup spermatozoa.

Menurut Belleville-Nabet (\*996) banyaknya spermatozoa yang mati, mengakibatkan senyawa pengikat metal protein trans membran dan protein membran dalam mitokondria spermatozoa yang telah mati melepaskan ion logam besi ( $Fe^{3+}$ ) yang dapat dioksidasi oleh anion superoksida serta sebagai katalisator degradasi hidrogen peroksida yang menghasilkan radikal bebas terutama radikal hidroksil melalui reaksi Fenton sebagai berikut .



Radikal hidroksil dapat menyebabkan peroksidasi membran lemak, kerusakan untai DNA dan inaktivasi enzim di dalam sel (Bowler *et al.*, 1992 . Mehdy, 1994) Radikal hidroksil yang terbentuk merupakan radikal bebas yang sangat reaktif dan dapat menggoyahkan membran dan menyebabkan kematian spermatozoa karena asam lemak tidak jenuh, protein, karbohidrat atau glikoprotein komponen membran serta DNA yang sangat rentan terhadap radikal hidroksil

#### 6.4.4 Pengaruh Integritas Membran terhadap Abnormalitas Spermatozoa

Integritas membran berpengaruh negatif terhadap abnormalitas spermatozoa dalam semen selama masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah. Semakin tinggi integritas membran semakin rendah abnormalitas spermatozoa dalam semen kambing, sebaliknya semakin rendah integritas membran semakin tinggi abnormalitas spermatozoa dalam semen

kambing. Aktivitas SOD dan katalase melalui sistem antioksidan melindungi kerusakan membran spermatozoa akibat peroksidasi lipid, yang mempengaruhi struktur normal spermatozoa. Yeung *et al.* (1998) menjelaskan bahwa ada hubungan antara aktivitas enzim antioksidan dengan integritas membran yang mempengaruhi morfologi spermatozoa di dalam semen.

Membran spermatozoa mamalia kaya dengan asam lemak tidak jenuh jamak dan sangat rentan terhadap SOR yang menyebabkan kerusakan membran spermatozoa (Sikka, 1996). Penurunan integritas membran mengakibatkan meningkatnya kerusakan morfologi *midpiece* (Lamirande *and* Gagnon, 1992), sehingga abnormalitas spermatozoa dalam semen menjadi meningkat.

Menurut Plante *et al.* (1994), SOR diproduksi oleh beberapa komponen semen, termasuk spermatozoa tidak motil, spermatozoa abnormal dan spermatozoa morfologi normal tetapi fungsi tidak normal. Selanjutnya Sikka (1996) menjelaskan bahwa pembentukan SOR yang berlebihan oleh spermatozoa abnormal diidentifikasi sebagai salah satu penyebab penurunan kualitas spermatozoa pada pejantan. Sementara induksi kerusakan membran spermatozoa oleh SOR merupakan kondisi yang dapat menghasilkan spermatozoa dengan abnormalitas tinggi dan menyebabkan infertilitas.

Semen mengandung antioksidan atau kapasitas *scavenger* SOR yang dapat mencegah kerusakan spermatozoa. Potensi *scavenger* dalam semen secara normal dipelihara oleh keberadaan antioksidan yang memadai seperti SOD, katalase, glutathion peroksidase dan glutathion reduktase (Sikka *et al.*, 1995). Pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah,

aktivitas SOD dan katalase menurun seiring dengan bertambahnya umur kambing. Sementara terjadi peningkatan produksi SOR di dalam spermatozoa dan plasma semen. Peningkatan SOR yang tidak diimbangi dengan meningkatnya aktivitas antioksidan, menimbulkan keadaan stres oksidatif yang mengakibatkan menurunnya integritas membran dan berpengaruh terhadap morfologi normal spermatozoa. Twigg *et al.* (1998), menjelaskan bahwa peningkatan SOR tanpa diimbangi dengan peningkatan aktivitas antioksidan menjadi mediator kerusakan spermatozoa yang dihubungkan dengan peningkatan abnormalitas dan mengganggu penetrasi spermatozoa ke dalam oosit.

Peroksidasi lipid yang terjadi akibat menurunnya aktivitas SOD dan katalase selama masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah ini, dapat mengakibatkan kerusakan membran spermatozoa dan meningkatkan abnormalitas spermatozoa. Dandekar *et al.* (2002) menjelaskan bahwa kerusakan membran spermatozoa akibat peroksidasi lipid yang ditandai dengan meningkatnya konsentrasi MDA dan lipofusin menyebabkan abnormalitas spermatozoa serta memberikan pengaruh perubahan ion esensial untuk mempertahankan motilitas normal.

## BAB 7

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 7.1 Kesimpulan

1. Pada masa reproduksi kambing kacang konsentrasi, motilitas, persentase hidup dan integritas membran spermatozoa menurun tetapi volume semen dan abnormalitas spermatozoa tidak mengalami perubahan nyata. Pada masa reproduksi kambing peranakan etawah volume semen meningkat, motilitas dan integritas membran spermatozoa menurun, tetapi konsentrasi, persentase hidup dan abnormalitas spermatozoa tidak mengalami perubahan nyata.
2. Pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah, aktivitas SOD dan katalase menurun seiring dengan bertambahnya umur kambing.
3. Kambing kacang menghasilkan ejakulat dengan volume, konsentrasi, motilitas (kambing umur sedang), integritas membran spermatozoa (kambing umur sedang dan tua) dan aktivitas katalase lebih rendah, tetapi aktivitas SOD lebih tinggi dibandingkan kambing peranakan etawah. Motilitas (kambing umur muda dan tua), persentase hidup, abnormalitas dan integritas membran spermatozoa (kambing umur muda) tidak berbeda nyata antara kambing kacang dan kambing peranakan.
4. Aktivitas SOD berpengaruh positif terhadap integritas membran spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah.



5. Aktivitas katalase berpengaruh positif terhadap integritas membran spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah
6. Integritas membran spermatozoa berpengaruh positif terhadap motilitas dan persentase hidup spermatozoa, tetapi berpengaruh negatif terhadap abnormalitas spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah.

Berdasarkan kesimpulan tersebut diungkapkan bahwa aktivitas antioksidan mempunyai peran dalam mempertahankan integritas membran spermatozoa, yang memberikan pengaruh terhadap perubahan karakter ejakulat pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah. Namun demikian, karakter ejakulat dan aktivitas antioksidan berbeda antara kambing kacang dan kambing peranakan etawah.

## 7.2 Saran-Saran

1. Untuk mendapatkan semen segar yang mempunyai karakter ejakulat dan aktivitas antioksidan paling baik pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah, disarankan menggunakan kambing umur muda (kurang dari 1,5 tahun)
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut, dalam rangka meningkatkan produktivitas kambing umur tua dengan penambahan antioksidan dalam pakan, agar menghasilkan karakter ejakulat yang lebih baik dan dapat dimanfaatkan dalam waktu yang lebih lama.

3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut, dalam rangka mempertahankan kualitas semen segar sebelum digunakan melalui penambahan antioksidan, terutama yang berasal dari kambing umur sedang dan tua.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut, dalam rangka mengurangi penurunan kualitas spermatozoa pada semen beku melalui penambahan antioksidan dalam semen sebelum proses pembekuan.



## DAFTAR PUSTAKA

- Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* 105 : 121-126
- Aitken, R.J. and J.S. Clarkson. 1987. Cellular basis of defective sperm function and its association with the genesis of reactive oxygen species by human spermatozoa. *J Reprod Fert.* 81 : 459-469
- Aitken, R.J., K.M. West and D.W. Buckingham. 1994. Leukocyte infiltration into the human ejaculate and its association with semen quality, oxidative stress and sperm function. *J Androl.* 15 : 343-352
- Aitken, R.J., M. Paterson, H. Fisher, D.W. Buckingham and M. van Dorn. 1995. Redox regulation of tyrosine phosphorylation in human spermatozoa and its role in the control of human sperm function. *J Cell Sci.* 108 : 2017-2025
- Ali, B.H. and A.I. Mustafa. 1986. Semen characteristics of Nubian goats in the Sudan. *Anim Reprod Sci.* 12 : 63-68
- Alvarez, J.G., J.C. Touchstone, L. Blasco and B.T. Storey. 1987. Spontaneous lipid peroxidation and production of hydrogen peroxide and superoxide in human spermatozoa-superoxide dismutase as major enzyme protectant against oxygen toxicity. *J Androl.* 8 : 338-348
- Alvarez, J.G. and B.T. Storey. 1982. Spontaneous lipid peroxidation in rabbit epididymal spermatozoa: its effect on sperm motility. *Biol Reprod.* 27 : 1102-1108
- Anderson, L.A. and L.A. Dawson. 1991. EXAFS spectroscopy of hemecontaining oxygenases and peroxidases. *Struct & Bond.* 64 : 1-49
- Agarwal, A., R.A. Salen and M.A. Bedawy. 2003. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertil Steril.* 79 : 829-843
- Belleville-Nabet, F. 1996. Zat gizi antioksidan penangkal senyawa radikal pangan dalam sistem biologis. *Prosiding Seminar Senyawa Radikal dan Sistem Pangan.* Pusat Studi Pangan dan Gizi-IPB. Hal 1-29
- Bala. Inseminasi Buatan. 1997. *Petunjuk penampungan, produksi, distribusi dan evaluasi semen beku di BfB Singosari.* Malang. Hal 9-15.

- Biswas, S.C., D Singh and R S Pandey. 1995. Subcellular distribution of oxygen free radical scavenging enzymes in goat ovary *Indian J Exp Biol.* 33 . 785-787.
- Bowler, C.M., V Muntagu and D. In'Ze. 1992. Superoxide dismutase and stress tolerance. *Plant Mol Biol.* 43 . 83-116.
- Brown, J. 1997. Fecal steroid profiles in black-footed ferrets exposed to natural photoperiod *J Wild Manage.* 61 . 1428-1436
- Calvin, H I., G W. Cooper and E W Wallace. 1981. Evidence that selenium in rat sperm is associated with a cysteine-rich structural proteins of the mitochondrial capsule. *Gamete Res.* 4 . 139-145
- Calvo, A., E Martinez, L.M. Pastor, J.M. Vazquez and J Roca. 1997. Classification and quantification of abnormal sperm along the epididymal tract. *Reprod Nutr Dev.* 37 . 661-673.
- Carraro, C and M.A Pathak. 1988. Characterization of superoxide dismutase from mammalian skin epidermis. *J Invest Dermatol.* 90 . 31-36
- Chen, C.N and S.M. Pan. 1996. Assay of superoxide dismutase activity by combining electrophoresis and densitometry. *Bot Bull Acad Sin.* 37 . 107-111
- Chen, H., P.H. Chow, S.K. Cheng, A.L.M. Cheung, L.Y.L. Cheng and O. Wa-Sum. 2003. Male genital tract antioxidant enzymes : their source, fundation in the female and ability to preserve sperm DNA integrity in the golden hamster. *J Androl.* 24 . 5-11.
- Chemineau, P., G Baril, B Leboeuf, M.C Maurel, F Roy, M Pelluci-Rubio, B Maltaux and Y. Cognie. 1999. Implications of recent advances in reproductive physiology for reproductive management of goats. *J Reprod Fertil Suppl.* 54 . 129-142.
- Correa, J.R., G. Heersche and P.M. Zavos. 1996. Sperm membrane functional integrity and response of frozen thawed bovine spermatozoa during the hypoosmotic swelling test: incubation at varying temperatures. *Theriogenology* 47 . 715-723
- Cummins, J.M., A.M Jequier and K. Raymond. 1994. Molecular biology of human male infertility : links with aging, mitochondrial genetics and oxidative stress. *Mol Rep and Dev.* 37 . 345-362
- Dancekar, S.P., G.D. Nadkarni, V.S. Kulkarni and S. Punekar. 2002. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in male infertility. *Brief Report.* 48 . 186-189

- Darley-Ussmar, V., H. Wiseman and B. Halliwell. 1995. Nitric oxide and oxygen radicals : a question of balance. *FEBS Letters*. 369 : 131-135.
- Darnell, J., H. Lodish and D. Baltimore. 1990. *Molecular cell biology*. 2<sup>nd</sup> edition. *Sci Am Books*. Pp 491-527.
- De Lamirande, E., A. Harakat and C. Gagnon. 1998. Human sperm capacitation induced by biological fluids and progesterone, but not by NADH or NADPH, is associated with the production of superoxide anion. *J Androl*. 19 : 215-225.
- De Lamirande, E. and C. Gagnon. 1992. Reactive oxygen species and human spermatozoa. *J Androl*. 13 : 368-386.
- De Lamirande, E. and C. Gagnon. 1993. Human sperm hyperactivation and capacitation as parts of an oxidative process. *Free Rad Biol & Med*. 14 : 157 – 166.
- De Lamirande, E., H. Jiang, A. Zini, H. Kodama and C. Gagnon. 1997. Reactive oxygen species and sperm physiology. *Rev Reprod*. 2 : 48 – 54.
- Dean, R.T., J. Gebicki, S. Gieseg, A.J. Grant and J.A. Simpson. 1992. Hypothesis : a damaging role in aging for reactive protein oxidation product. *Mutation Research*. 275 : 387-393.
- Devi, S.A. and T.R. Kiran. 2003. Regional responses in antioxidant system to exercise training and dietary vitamin E in aging rat brain. *Gerontol*. 8 : 560-565.
- Dua, A. and S.R. Vaidya. 1996. Sperm motility and morphology as changing parameters linked to sperm count variation. *J Post Med*. 42 : 93-96.
- Dwiyanto, M. 1994. *Penanganan Domba dan Kambing*. PT. Penebar Swadaya. Jakarta. Hal 36-80.
- Ernster, L. 1993. Lipid peroxidation in biological membranes : mechanisms and implications. In : *Active oxygen, lipid peroxides and antioxidants*. Ed . Yagi, CRC Press, Boca Raton. 1-38
- Eskenazi, B., A.J. Wyrobek, E. Sloter, S.A. Kidd, L. Moore, S. Young and D. Moore. 2003. The association of age and semen quality in healthy men. *Hum Reprod*. 18 : 447-454.
- Evans, G. and W.M.C. Maxwell. 1987. *Salamon's artificial insemination of sheep and goats*. Butterworths. Sydney. Pp 26-43.

- Evans, W.H. and J.M. Graham. 1989. *Membrane structure and function*. IRL Press. Oxford Univ Press. Oxford. Pp 11-28.
- Flaherty, C.M., N.B. Borlegui and M.T. Beconi. 1999. Reactive oxygen species requirements for bovine sperm capacitation and acrosome reaction. *Theriogenology*. 52 : 289 – 301
- Fleck, R.A., E.E. Benson, D.H. Bremner and J.G. Day. 2003. A comparative study of antioxidant protection in cryopreserved unicellular algae. *Cryoletters*. 24 : 213-228.
- Fridovich, I. 1986. *Superoxide dismutase*. Advances in enzymology. John Willey & Sons. New York. Pp 61-70.
- Gagnon, C., A. Iwasaki, E. de Lamirande and N. Kovalski. 1991. Reactive oxygen species and human spermatozoa. *Ann N Y Acad Sci*. 637 : 436-444.
- Gangadharan, B., M.A. Murugan and P.P. Mathur. 2001. Effect of methoxychlor on antioxidant system of goat epididymal sperm in vitro. *Asian J Androl*. 3 : 285-288
- Gokhale, S.B., R.B. Gokhale, P.R. Nisal, P.H. Joshi and A.M. Bambal. 2002. Studies on biochemical parameters of semen of siroshi buck. *Ind J Anim Sci*. 50 : 165-169.
- Gosden, R.G., D.W. Richardson, N. Brown and D.W. Davidson. 1982. Structure and gametogenic potential of seminiferous tubules in aging mice. *J Reprod Fertil*. 64 : 127-133.
- Goyal, R.L., R.K. Tuli, G.C. Georgie and D. Chand. 1996. Comparison of quality and freezability of water buffalo semen after washing or sephadex filtration. *Theriogenology*. 46 : 679-686.
- Griveau, J.F., E. Dumont, P. Renard, J.P. Callegari and D. Le Lannou. 1995. Reactive oxygen species, lipid peroxidation and enzymic defence systems in human spermatozoa. *J Reprod Fert*. 103 : 17-26.
- Gruenewald, D.A., M.A. Naar, D.L. Hess and A.M. Matsumoto. 1994. The Brown Norway rat as a model of male reproductive aging : evidence for both primary and secondary testicular failure. *J Gerontol*. 49 : B42-B50.
- Haenlein, G.F.W. 1992. All about goats. In *Goat handbook*. Pennsylvania State U. Univ Park. Pp 1-5.
- Hafez, E.S.E. 1993. Artificial Insemination. In . *Reproduction in farm Animals*, 6<sup>th</sup> ed Lea and Febiger, Philadelphia USA. Pp 376-389.

- Hafez, E.S.E. 2000. Fertilization and Cleavage. In : *Reproduction in farm animal*. 7<sup>th</sup> ed. Lea & Febiger Philadelphia USA. Pp 110 – 125.
- Halliwell, B. 1991. Reactive oxygen species in living systems : Source, biochemistry and role in human disease. *Am J Med* 91 : 14s-21s.
- Halliwell, B. and J.M.C. Gutteridge. 1999. *Free radicals in biology and medicine*. 3<sup>rd</sup> ed. Oxford Univ Press. New York.
- Hammerstedt, H.R. 1993. Maintenance of bioenergetic balance in sperm and prevention of lipid peroxidation . A review of the effect on design of storage preservation systems. *Reprod Fertil*. 5 : 675-690.
- Hardjopranojoto, S. 1983. Biologi reproduksi kerbau lumpur (*Bubalus bubalis*) ditinjau dari segi kesuburan, hormon kelamin, morfologi kelenjar hipofisa dan spermatozoa. *Disertasi*. Pascasarjana IPB. Bogor.
- Hardjopranojoto, S. 1988. *Ilmu Inseminasi Buatan*. FKH Unair. Surabaya. Hal 98-107.
- Hardjopranojoto, S. 1995. *Ilmu kemajiran pada ternak*. Airlangga University Press. Hal 24.
- Heine, C., J. Tynnela, J.D. Cooper, D.N. Palmer, M. Elleder, A. Kohlschutter and T. Braulke. 2003. Enhanced expression of manganese-dependent superoxide dismutase in human and ovine CLN6 tissues. *J Biochem*. 29
- Hruszkewycz, A.M. 1992. Lipid peroxidation and mtDNA degeneration. A hypothesis. *Mutation Research*. 275 : 243-248.
- Huszar, G. and L. Vigue. 1994. Correlation between the rate of lipid peroxidation and cellular maturity as measured by creatine kinase activity in human spermatozoa. *J Androl*. 15 : 71-77
- Iwasaki, A. and C. Gagnon. 1992. Formation of reactive oxygen species in spermatozoa of infertile patients. *Fertil Steril* 57 : 409-416.
- Jones, R.,T. Mann and R.J. Sherins. 1993. Damage to ram spermatozoa by peroxidation of endogenous phospholipids, *J Reprod Fertil*. 50 : 261 – 268.
- Johnson, L. 1989. Evaluation of the human testis and its age-related dysfunction. *Prog Clin Biol Res*. 302 : 35-67.
- Johnson, L., C.S. Petty and W.B. Neaves. 1984. Influence of age on sperm production and testicular weights in men. *J Reprod Fertil*. 70 : 211-218.

- Karagiannidis, A., S. Varsakeli and G. Karatzas. 2000. Characteristics and seasonal variations in the semen of Alpine, Saanen and Damascus goat bucks born and raised in Greece. *Theriogenology*. 53 : 1285-1293.
- Kelso, K.A., A. Redpath, R.C. Noble and B.K. Speake. 1997. Lipid and antioxidant changes in spermatozoa and seminal plasma throughout the reproductive period of bulls. *J Reprod and Fert*. 109 : 1-6.
- Kerr, J.B. 1992. Functional cytology of the human testis. *Baillieres Clin Endocrin Metab* 6 : 235-250.
- Krinsky, N. 1992. Mechanism of action of biological antioxidants. *Proc Soc Exp Biol and Med*. 200.
- Kumi-Daka, J., V. Nagaratnam and J.S. Rwuaan. 1981. Seasonal and age-related changes in semen quality and testicular morphology of bulls in a tropical environment. *Vel Rec*. 108 : 13-15.
- La Falci, V.S., H. Tortorella, J.L. Rodrigues and A. Brandelli. 2002. Seasonal variation of goat seminal plasma proteins. *Theriogenology*. 57 : 1035-1048.
- Lass, A., S. Agarwal and R.S. Sohal. 1997. Mitochondrial ubiquinone homologues, superoxide radical generation, and longevity in different mammalian species. *J Biol Chem*. 272 : 199-204.
- Lehninger, A.L. 1995. *Dasar-Dasar Biokimia* Jilid I. Alih Bahasa : M. Thenawijaya. Erlangga. Jakarta. Hal 235-255.
- Lenzi, A., M. Picardo, L. Gandini, F. Lombardo, O. Terminali, S. Passi and F. Dondero. 1994. Glutathione treatment of dyspermia : effect on the lipoperoxidation process. *Hum Reprod*. 9 : 2044-2050.
- Liochev, S.I. and I. Fridovich. 1991. Effects of overproduction of superoxide dismutase on the toxicity of paraquat toward *Escherichia coli*. *J Biol Chem*. 266 . 8748 – 8750.
- Liu, D. 1996. The role of free radicals in amyotrophic lateral sclerosis. *J Mol Neu Sci*. 7 : 159-167
- Maier, C.M. and P.H. Chan 2002. Role of superoxide dismutase in oxidative damage and neurodegenerative disorder. *Neuroscientist*. 8 : 323-334.
- Malmgren, L. and H.R. Martinez. 1996. Change in sperm motility and plasma membran integrity in equine spermatozoa after storage under different condition. Presented by 13<sup>th</sup> intern congress on anim reprod poster session. Pp 24-26



- Mann, T. and C. Lutwak-Mann. 1981. Biochemistry of spermatozoa : chemical and functional correlations in ejaculated semen. In : *Male reproductive function and semen, themes and trends in physiology and biochemistry and investigative andrology*. Pp 195-268.
- Maxwell, W.M.C. and P.F. Watson. 1996. Recent progress in the preservation of ram semen. *Anim Reprod Sci*, 42 : 55-65.
- Mc Cord, J.M. and I. Fridovich. 1969. Superoxide dismutase : an enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *J.Biol.Chem.* 244 : 6049-6055.
- Mehdy, M.C. 1994. Active oxygen species in plant defense against pathogens. *Plant Phys.* 105 : 467-472
- Miesel, R., K. Jedrzejcz, D. Sanocka and M.K. Kurpisz. 1997. Severe antioxidase deficiency in human semen samples with pathological spermogram parameter. *Andrologia*. 29 : 77-83.
- Miller, J.K. and E.Brzezinska-Slebodzinska. 1993. Oxidative stress, antioxidants and animal function. *J Dairy Sci*. 76 : 2812-2832.
- Mladenovic, I., S. Micic, N. Papic, O. Genbaccv and B. Marinkovic. 1994. Sperm morphology and motility in different age populations. *Arch Androl*. 32 : 197-205.
- Murtidjo, B.A. 1993. *Memelihara Kambing sebagai Ternak Potong dan Perah*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. Pp 16-83.
- Nainar, M.A., B.M. Easwaran and R. Tom. 1990. Semen manipulation : Improved sperm recovery and function with a two layer percoll gradient. *Fertil Steril*. 51 : 5 -11.
- Nishimura, S., K. Okano, K. Yasukouchi, T. Gotoh, S. Tabata and H. Iwamoto. 2000. Testis developments and puberty in the male Tokara (Japanese native) goat. *Anim Reprod Sci*. 64 : 127-131.
- Niwa, Y., K. Tominaga and K. Yoshida. 1998. Successful treatment of severe atopic dermatitis-complicated cataract and male infertility with a natural product antioxidant. *Int J Tissue React*. 20 : 63-69.
- Nolan, J.P. and R.H. Hammerstedt. 1997. Regulation of membrane ability and the acrosome reaction in mammalian sperm. *J Faseb*. 11 : 670 – 681.
- Oberly, L.W. and D.R. Spitz. 1985. Nitroblue Tetrazolium. In Greenwald (ed). *CRC Handbook of Methods for Oxygen Radical Research*. CRC Press. Boca Raton. Pp. 217-220.



- Oke, A. Olusola, Ajala, O. Oluwatoyin, M.O. Oyeyemi and A.O. Kadiri. 2003. The effect of starvation on scrotal circumference and morphology of spermatozoa of West African Dwarf Goat Buck. *Trop vet.* 21 : 9-14.
- Ottinger, M.A. 1998. Male reproduction : testosterone, gonadotropins and aging. *Interdiscipl Top Gerontol.* 29 : 105-126.
- Oyeyemi, M.O., M.O. Akusu and O.E. Ola-Davies. 2001 Effect of successive ejaculation on the spermogram of west african dwarf goat. *Isr Vet Med Assoc.* 56 : 71-75.
- Ozawa, T. 1995 Mechanism of somatic mitochondrial DNA mutations associated with age and diseases. *Bioch et Biophys Acta.* 1271 : 177-189.
- Park, J.E. and J.K. Graham. 1992. Effect of cryopreservation procedures on sperm membranes. *Theriogenology.* 38 : 209 – 222.
- Plante, M., E. de Lamirande and C. Gagnon. 1994. Reactive oxygen species released by activated neutrophils, but not by deficient spermatozoa, are sufficient to affect normal sperm motility. *Fertil Steril.* 62 : 387-393.
- Prado, V., A. Orihuela, S. Lozana and I. Perez-leon. 2002. Management of the female stimulus during semen collection and its association with libido re-establishment and semen characteristics of goat. *J Anim Sci.* 80 : 1520-1523.
- Prado, V., A. Orihuela, S. Lozana and I. Perez-leon. 2003. Effect on ejaculatory performance and semen parameters of sexually-satiated male goats (*Capra hircus*) after changing the stimulus female. *Theriogenology.* 60 : 261-167.
- Pasqualotto, F.F., R.K. Sharma, D.R. Nelson, A.J. Thomas and A. Agarwal. 2000. Relationship between oxidative stress, semen characteristics and clinical diagnosis in men undergoing infertility investigation. *Fertil Steril* 73 : 459-464.
- Rajasekaran, M., W.J. Hellstrom, R.K. Naz and S.C. Sikka. 1995. Oxidative stress and interleukins in seminal plasma during leukocytospermia. *Fertil Steril.* 64 : 166-171
- Rao, B., J.C. Soufir, M. Martin and G. David. 1989. Lipid peroxidation in human spermatozoa as related to midpiece abnormalities and motility. *Gamete Res.* 24 : 127-134.
- Rungkat, F. dan Zakaria, 1996. Sintesis senyawa radikal dan elektrolit dalam dan oleh bahan pangan. *Prosiding Seminar : Senyawa Radikal dan Sistem Pangan.* Pusat Studi Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor.

- Salamon, S. and W.M.C Maxwell. 1995. Frozen storage of ram semen II. Causes of low fertility after cervical insemination and method of improvement. *Anim Reprod Sci.* 36 : 1-36
- Salisbury, G.W. dan N.L. Van Demark. 1985. *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi*. Alih bahasa : R. Djanuar. Gajah Mada Univ Press. Yogyakarta.
- Sandhi, G.N., G.G. Mayun, M. Pastika, P. Sarini dan S.G.N. Darmadja. 1988. *Umur pubertas dan beberapa performans reproduksi kambing jantan peranakan etawah*. Univ Udayana. Bali.
- Scott, M.D., S.R. Meshnick and J.W. Eaton. 1987. Superoxide dismutase rich bacteria paradoxical increase in oxidant toxicity. *J Biol Chem.* 262 : 3640-3645.
- Sikka, S.C. 1996. Oxidative stress and role of antioxidants in normal and abnormal sperm function. *Bioscience.* 1 : 78-86.
- Sikka, S.C., M. Rajasekaran and W.J. Hellstrom. 1995. Role of oxidative stress and antioxidants in male infertility. *J Androl.* 16 : 464-468.
- Singh, D., M.K. Sharma and R.S. Pandey. 1998. Changes in superoxide dismutase activity and estradiol-17 $\beta$  content in follicles of different size from ruminants. *Indian J Exp Biol.* 36 : 358-360.
- Singh, P., D. Chand and G.C. Georgic. 1992. Lipid peroxydation influence on release of glutamate oxaloacetate transaminase, free fatty acid and fructolytic index of buffalo (*Bubalus bubalis*) spermatozoa. *Indian J Vet.* 69 : 718-720.
- Singh, R.S., N.S. Tomar, K.C. Sharma and K.B. Sharma. 1992. Studies on acrosomal abnormalities of cattle and buffalo in relation to other semen characteristics and fertility. *Indian J Vet.* 69 : 267 – 268.
- Siregar, P. 1992. Metabolit oksigen radikal bebas dan kerusakan jaringan. *Cermin Dunia Kedokteran.* 80 : 112-115.
- Soderquist, L., N.M. Bury and H.R. Martinez. 1997. Assesment of ram sperm membrane integrity following different thawing procedures. *Theriogenology.* 48 : 1115-1126.
- Sodiq, A. and E.S. Tawfik. 2003. *Reproduction rate of kacang and peranakan etawah goats under village production system in Indonesia*. Univ of Kassel. Germany.

- Steel, R.G.D dan J H. Torrie. 1995 *Prinsip dan Prosedur Statistika*. Alih Bahasa : B. Sumantri. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Su, W.J., C.J. Chang, H.C Peh, S.L. Lee, M.C. Huang and X. Zhao. 2002. Apoptosis and oxidative stress of infiltrated neutrophils obtained from mammary glands of goats during various stages of lactation. *Am J Vet Res.* 63 : 241-246.
- Sudjana, 1996. *Metoda Statistika*. Edisi 6. Tarsito. Bandung. Hal 299-391
- Sujari, E. and C. Pholpramool. 1985. Enhancement of sperm transport through the rat epididymis after castration. *J Reprod Fertil* 74 : 497-502.
- Surai, P. 1995 The influence of the content, stability and metabolism of membrane lipids on the function and survival of poultry spermatozoa in vitro and in vivo. In *Physiology, Fundamental Medical Science*. Dept of Phys Biochem and Nutr. Borky-Karkov Region.
- Suwarso, 1999 Pengaruh rafinosa dalam pengencer tris-sitrat kuning telur terhadap kualitas semen beku kambing peranakan etawah. Thesis . Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Thaler, C.D., and R.A. Cardullo 1995. *The mammalian sperm surface . molecular and cellular aspects in gametes the spermatozoon*, Ed. Grudzinskas and Yovich. Cambride Univ Press. Pp 110-129.
- Tiziana, R., M. Fernando, D. Michele and D. Franco. 2001. Improved human sperm recovery using superoxide dismutase and catalase supplementation in semen cryopreservation procedure. *Cell Tiss Bank.* 2 : 9-13
- Toelihere, M.R. 1985. *Inseminasi Buatan pada Ternak*. Angkasa. Bandung. Hal 92-120.
- Twigg, J., N. Fulton, E. Gomez, D.S. Irvine and R.J. Aitken. 1998. Analysis of the impact of intracellular reactive oxygen species generation on the structural and functional integnty of human spermatozoa . lipid peroxidation, DNA fragmentation and effectiveness of antioxidants. *Hum Reprod.* 13 . 1429-1426.
- Ukeda, H. 2000. *Assay of Enzyme Superoxide Dismutase (SOD)*. Dept of Agric Khochi Univ. Mononobe Otsu Nangoku-City. Khochi. Pp 783-850.
- Upreti, G.C., K. Jensen, R. Munday, D.M. Duganzich, R. Viswanath and J.F. Smith. 1994 Studies on aromatic amino acid oxidase activity in ram spermatozoa : rele of pyruvate as an antioxidant. *Anim Reprod Sci.* 51 : 275-287.

- Upreti, G.C., K. Jensen, J.E. Oliver, D.M. Duganzich and R. Munday. 1997. Motility of ram spermatozoa during storage in a chemically-defined diluent containing antioxidants. *Anim Rep Sci.* 48 : 269-278
- Valcarcel, A., M.A. de las Heras, L. Peres, D.F. Moses and H. Baldassarre. 1994. Fluorescent staining as a method of assessing membrane damage and post thaw survival of ram spermatozoa. *Theriogenology.* 41 : 483-489.
- White, I.G. 1993. Lipids and calcium uptake of sperm in relation to cold shock and preservation : A review. *Reprod.Fertil.Dev* 5 : 639-697
- Wijaya, A. 1996 Radikal bebas dan parameter status antioksidan *Forum Diagnosticum.* Prodia diagnostics educational services. Hal 1-12
- Wildeus, S. 1995 *Reproductive physiology research* Virginia State University Petersburg. Pp 238-246
- Wildt, D.E., M. Bush, C. Morton, F. Morton and J.G. Howard. 1989. Semen characteristics and testosterone profiles in ferrets kept in a long-day photoperiod, and the influence of hCG timing and sperm dilution medium on pregnancy rate after laparoscopic insemination. *J Reprod Fertil.* 86 : 349-358.
- Winn, L.M., and P.G. Wells. 1997. Evidence for embryonic prostaglandin H synthase-catalyzed bioactivation and reactive oxygen species-mediated oxidation of cellular macromolecules in phenytoin and benzopyrene teratogenesis. *Free Radic Biol Med* 22 : 607-621
- Wolf, K.N., D.E. Wildt, A.Vargas, P.E. Marinari, J.S. Kreeger, M.A. Ottinger and J.G. Howard. 2000. Age-dependent changes in sperm production, semen quality and testicular volume in the black-footed ferret (*Mustela nigripes*). *Biol Reprod.* 63 : 179-187
- Wright, W.W., C. Fiore and B.R. Zirkin. 1993. The effect of aging on the seminiferous epithelium of the Brown Norway rat. *J Androl.* 14 : 110-117.
- Yanis, J.L., M. Lopez-Bejar, P. Santolaria, J. Rutlant and F. Lopez-Gatius. 2002. Intrapertoneal insemination in mammals . a review. *Reprod Domest Anim* 37 : 75-80.
- Yeung, C.H., T.G. Cooper, M. de Geyter, C. de Geyter, C. Rolf, A. Kamischke and E. Nieschlag. 1998. Studies on the origin of redox enzymes in seminal plasma and their relationship with results of in vitro fertilization. *Mol Hum reprod.* 4 : 835-839.

- Zielinski, S. and H.O. Portner. 2000. Oxidative stress and antioxidative defense in cephalopods : a function of metabolic rate or age. *Bioch Mol Biol.* 125 : 147-160.
- Zini, A., M.A. Fischer, V. Mark, D. Phang and K. Jarvi. 2000. Catalase-like and superoxide dismutase-like in human seminal plasma. *Mol Hum reprod.* 6 : 136-142.



**Lampiran 1. Perbedaan volume semen kambing umur muda, sedang dan tua (ml).**

Ulangan	Kambing Kacang			Kambing PE		
	Muda (K-1)	Sedang (K-2)	Tua (K-3)	Muda (P-1)	Sedang (P-2)	Tua (P-3)
1	0.80	0.80	0.70	1.00	1.30	1.20
2	0.70	0.80	0.80	1.10	1.20	1.30
3	0.70	0.70	0.80	1.00	1.50	1.20
4	0.90	0.90	1.00	0.90	1.50	1.50
5	0.70	1.00	0.70	0.90	1.30	1.50
6	0.80	0.90	0.90	0.80	1.30	1.60
7	0.90	0.70	0.90	0.80	1.40	1.60
8	1.00	0.80	1.00	1.10	1.30	1.30
9	0.90	0.70	0.90	0.90	1.40	1.60
10	0.80	1.00	1.00	1.00	1.50	1.50
<b>Rata-Rata</b>	0.82	0.83	0.87	0.95	1.36	1.43
<b>SD</b>	0.10	0.12	0.12	0.11	0.12	0.16

**KAMBING KACANG**

----- Kolmogorov - Smirnov Goodness of Fit Test -----

Test distribution	Normal	Mean	0.8400
		Standart Deviation	: 0.1102
Cases	30		
Most extreme differences			
Absolute	0.17506	Positive	0.17506
		Negative	-0.17365
		K-S Z	0.9588
		2-Tailed P	0.3168

**Levene Test for Homogeneity of Variances**

Statistic	df 1	df 2	2-tail Sig
0.1559	2	27	0.856

----- ONE-WAY ANOVA -----

GROUP	MEAN	N
1	0.820	10
2	0.830	10
3	0.870	10
<b>GRAND MEAN</b>	<b>0.840</b>	<b>30</b>

SOURCE	SUM OF SQUARES	D.F	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB
BETWEEN	0.014	2	7.0000E-03	0.559	0.5782 **
WITHIN	0.338	27	0.013		
TOTAL	0.352	29			

ns tidak berbeda nyata (P&gt;0.05)

**KAMBING PERANAKAN ETAWAH**

**Kolmogorov – Smirnov Goodness of Fit Test**

Test distribution - Normal	Mean	1.2467
	Standart Deviation	0.2501
Cases: 30		
Most extreme differences		
Absolute	Positive	Negative
0.14440	0.10462	-0.14440
	K-S Z	2-Tailed P
	0.7909	0.5590

**Levene Test for Homogeneity of Variances**

Statistic	df 1	df 2	2-tail Sig.
2.7295	2	27	0.083

**ONE-WAY ANOVA**

GROUP	MEAN	N
1	0.950	10
2	1.360	10
3	1.430	10
<b>GRAND MEAN</b>	<b>1.247</b>	<b>30</b>

SOURCE	SUM OF SQUARES	D.F.	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB
BETWEEN	1.345	2	0.672	38.623	1.201E-08 <sup>a</sup>
WITHIN	0.470	27	0.017		
TOTAL	1.815	29			

s berbeda nyata (P<0.05)

BNT -  $t_{\alpha} (db) \sqrt{\frac{2 \cdot KTS}{n_i}}$   
 $= t_{0.05}(27) \sqrt{\frac{2 \times 0.017}{10}}$   
 $= 2.05 \times 0.058$   
 $= 0.118$

Perlakuan	Rata-Rata	P-1	P-2	P-3
P-1	0.95 <sup>a</sup>	-	0.41 <sup>a</sup>	0.48 <sup>a</sup>
P-2	1.36 <sup>b</sup>	-	-	0.07
P-3	1.43 <sup>b</sup>	-	-	-

Tanda huruf yang berbeda pada kolom atau baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0.05)



## Lampiran 2. Perbedaan volume semen kambing kacang dan kambing peranakan etawah (ml).

### KAMBING UMUR MUDA

#### ----- Kolmogorov - Smirnov Goodness of Fit Test -----

Test distribution - Normal			Mean	: 0.8850
			Standart Deviation	: 0.1226
Cases 20				
Most extreme differences				
Absolute	Positive	Negative	K-S Z	2-Tailed P
0.15598	0.15598	-0.14870	0.6975	0.7153

#### Levene's Test for Equality of Variances

F	P
0.066	0.801

### ----- HYPOTHESIS TEST FOR MEANS -----

#### DIFFERENCE BETWEEN TWO GROUP MEANS : POOLED ESTIMATE VARIANCE

	GROUP 1	GROUP 2
MEAN	0.8200	0.9500
STD. DEV	0.1033	0.1080
N	10	10

DIFFERENCE	=	-0.1300
STD. ERROR OF DIFFERENCE	=	0.0473

T	-2.7508	( D F = 18 )	GROUP 1	KAMBING KACANG
			GROUP 2	KAMBING PE

PROB = 6.574E-03  
s berbeda nyata ( $P < 0.05$ )

### KAMBING UMUR SEDANG

#### ----- Kolmogorov - Smirnov Goodness of Fit Test -----

Test distribution - Normal			Mean	: 1.0950
			Standart Deviation	: 0.2946
Cases 20				
Most extreme differences				
Absolute	Positive	Negative	K-S Z	2-Tailed P
0.15671	0.14595	-0.15671	0.7008	0.7099

#### Levene's Test for Equality of Variances

F	P
0.027	0.871

**-----HYPOTHESIS TEST FOR MEANS-----**  
**DIFFERENCE BETWEEN TWO GROUP MEANS : POOLED ESTIMATE VARIANCE**

	GROUP 1	GROUP 2
MEAN	0.8300	1.3600
STD DEV	0.1160	0.1174
N	10	10

DIFFERENCE = -0.5300  
 STD ERROR OF DIFFERENCE = 0.0522

T = -10.1581 (DF = 18) GROUP 1 KAMBING KACANG  
 GROUP 2 KAMBING PE  
 PROB = 3.506E-09 \*  
 \* berbeda nyata (P<0.05)

**KAMBING UMUR TUA**

**-----Kolmogorov - Smirnov Goodness of Fit Test-----**

Test distribution	Normal	Mean	1.1500
		Standart Deviation	0.3187
Cases	20		
Most extreme differences			
Absolute	Positive	Negative	K-S Z
0.18105	0.18105	-0.16393	0.8097
			2-Tailed P
			0.5285

**Levene's Test for Equality of Variances**

F = 3.319  
 P = 0.085

**-----HYPOTHESIS TEST FOR MEANS-----**  
**DIFFERENCE BETWEEN TWO GROUP MEANS : POOLED ESTIMATE VARIANCE**

	GROUP 1	GROUP 2
MEAN	0.8700	1.4300
STD DEV	0.1160	0.1636
N	10	10

DIFFERENCE = -0.5600  
 STD ERROR OF DIFFERENCE = 0.0634

T = -8.8290 (DF = 18) GROUP 1 KAMBING KACANG  
 GROUP 2 KAMBING PE  
 PROB = 2.923E-08 \*  
 \* berbeda nyata (P<0.05)

Lampiran 3. Perbedaan konsentrasi spermatozoa dari semen kambing umur muda, sedang dan tua ( $10^9/ml$ ).

Ulangan	Kambing Kacang			Kambing PE		
	Muda (K-1)	Sedang (K-2)	Tua (K-3)	Muda (P-1)	Sedang (P-2)	Tua (P-3)
1	3.17	3.04	3.15	3.34	3.59	3.61
2	3.23	2.96	3.10	3.07	3.67	3.38
3	3.34	3.10	3.04	3.26	3.02	3.50
4	3.13	2.91	2.72	3.51	2.94	3.21
5	3.37	2.87	3.13	3.59	3.32	3.25
6	3.19	2.94	2.91	3.60	3.71	3.12
7	3.10	3.21	2.77	3.72	3.13	3.01
8	2.97	2.98	2.58	3.25	3.22	3.42
9	3.14	3.07	2.82	3.54	3.11	3.08
10	3.22	2.85	2.59	3.42	3.07	3.15
<b>Rata-Rata</b>	3.19	2.99	2.88	3.43	3.28	3.27
<b>SD</b>	0.12	0.11	0.22	0.20	0.28	0.20

#### KABING KACANG

#### Kolmogorov - Smirnov Goodness of Fit Test

Test distribution - Normal

Mean 3.0203  
Standard Deviation 0.1984

Cases 30

Most extreme differences

Absolute	Positive	Negative	K-S Z	2-Tailed P
0.12265	0.07866	-0.12265	0.6718	0.7576

#### Levene Test for Homogeneity of Variances

Statistic	df1	df2	2-tail Sig.
5.1365	2	2	0.053

#### ONE-WAY ANOVA

GROUP	MEAN	N
1	3.187	10
2	2.993	10
3	2.881	10
<b>GRAND MEAN</b>	<b>3.020</b>	<b>30</b>

SOURCE	SUM OF SQUARES	DF	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB
BETWEEN	0.479	2	0.240	9.771	6.418E-04 <sup>a</sup>
WITHIN	0.662	27	0.025		
TOTAL	0.142	29			

a. berbeda nyata ( $P < 0.05$ )

$$\begin{aligned}
 \text{BNT} &= \frac{t_{\alpha}(\text{db}) \sqrt{2 \frac{KTS}{n_i}}}{2} \\
 &= \frac{t_{0.025}(27) \sqrt{2 \times \frac{0.025}{10}}}{2} \\
 &= 2.05 \times 0.071 \\
 &= 0.146
 \end{aligned}$$

Perlakuan	Rata-Rata	K-3	K-2	K-1
K-3	2,88 <sup>a</sup>	-	0,11	0,31 <sup>a</sup>
K-2	2,99 <sup>a</sup>	-	-	0,20 <sup>a</sup>
K-1	3,19 <sup>b</sup>	-	-	-

Tanda huruf yang berbeda pada kolom atau baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ )

### KAMBING PERANAKAN ETAWAH

#### Kolmogorov - Smirnov Goodness of Fit Test

Test distribution	Normal	Mean	3,3270
		Standart Deviation	0,2334
Cases	30		
Most extreme differences			
Absolute	Positive	Negative	K-S Z
0,11296	0,11296	-0,10404	0,6187
			2-Tailed P
			0,8386

#### Levene Test for Homogeneity of Variances

Statistic	df 1	df 2	2-tail Sig
1,4218	2	27	0,259

#### ONE-WAY ANOVA

GROUP	MEAN	N
1	3,430	10
2	3,278	10
3	3,273	10
GRAND MEAN	3,327	30

SOURCE	SUM OF SQUARES	D.F.	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB
BETWEEN	0,159	2	0,080	1,513	0,2383 <sup>ns</sup>
WITHIN	1,421	27	0,053		
TOTAL	5,802	29			

ns . tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ )

**Lampiran 4. Perbedaan konsentrasi spermatozoa dari semen kambing kacang dan kambing peranakan etawah ( $10^9/ml$ ).**

**KAMBING UMUR MUDA**

----- Kolmogorov - Smirnov Goodness of Fit Test -----

Test distribution -- Normal

	Mean	3.3085
	Standard Deviation	0.2019

Cases 20

Most extreme differences

Absolute	Positive	Negative	K-S Z	2-Tailed P
0.14490	0.14490	-0.09081	0.6480	0.7951

**Levene's Test for Equality of Variances**

F	P
3.682	0.071

----- **HYPOTHESIS TEST FOR MEANS** -----

**DIFFERENCE BETWEEN TWO GROUP MEANS : POOLED ESTIMATE VARIANCE**

	GROUP 1	GROUP 2
MEAN	= 3.1870	3.4300
STD DEV	= 0.1171	0.1989
N	= 10	10
DIFFERENCE	-	-0.2430
STD. ERROR OF DIFFERENCE	-	0.0730

T -3.3288 ( D.F - 18 )    GROUP 1    KAMBING KACANG  
 GROUP 2    KAMBING PE

PROB = 1.868E-03  
 § berbeda nyata (P<0.05)

**KAMBING UMUR SEDANG**

----- Kolmogorov - Smirnov Goodness of Fit Test -----

Test distribution -- Normal

	Mean	3.1355
	Standard Deviation	0.2551

Cases 20

Most extreme differences

Absolute	Positive	Negative	K-S Z	2-Tailed P
0.20860	0.20860	-1.13152	0.9329	0.3489

**Levene's Test for Equality of Variances**

F	P
4.848	0.065

**-----HYPOTHESIS TEST FOR MEANS-----**  
**DIFFERENCE BETWEEN TWO GROUP MEANS : POOLED ESTIMATE VARIANCE**

		GROUP 1	GROUP 2
MEAN	.	2.9930	3.2780
STD. DEV.	.	0.1122	0.2822
N	-	10	10
<b>DIFFERENCE</b>		-	-0.2850
<b>STD. ERROR OF DIFFERENCE</b>		=	0.0960
T	= -2.9674	( D F = 18 )	GROUP 1 KAMBING KACANG GROUP 2 KAMBING PE
PROB	= 4.124E-03		
s berbeda nyata (P<0.05)			

**KAMBING UMUR TUA**  
**Kolmogorov - Smirnov Goodness of Fit Test**

Test distribution - Normal	Mean	Standard Deviation
Cases 20	3.0770	0.2848
Most extreme differences		
Absolute	Positive	Negative
0.10702	0.119887	-0.10702
	K-S Z	2-Tailed P
	0.4786	0.9760

**Levene's Test for Equality of Variances**

F	P
0.252	0.623

**-----HYPOTHESIS TEST FOR MEANS-----**  
**DIFFERENCE BETWEEN TWO GROUP MEANS : POOLED ESTIMATE VARIANCE**

		GROUP 1	GROUP 2
MEAN	.	2.8810	3.2730
STD. DEV.	.	0.2175	0.1965
N	-	10	10
<b>DIFFERENCE</b>		-	-0.3920
<b>STD. ERROR OF DIFFERENCE</b>		=	0.0927
T	= -4.2294	( D F = 18 )	GROUP 1 KAMBING KACANG GROUP 2 KAMBING PE
PROB	= 2.523E-04		
s berbeda nyata (P<0.05)			

**Lampiran 5. Perbedaan motilitas spermatozoa dari semen kambing umur muda, sedang dan tua (%).**

Ulangan	Kambing Kacang			Kambing PE		
	Muda (K-1)	Sedang (K-2)	Tua (K-3)	Muda (P-1)	Sedang (P-2)	Tua (P-3)
1	91.87	90.88	91.55	91.43	92.11	91.67
2	93.07	90.63	90.98	90.51	92.31	90.63
3	93.09	91.37	90.81	91.27	90.73	91.61
4	91.65	90.10	89.50	92.19	90.60	90.55
5	93.40	90.07	91.10	93.20	91.35	90.60
6	92.12	90.48	90.30	93.48	92.96	90.33
7	91.54	91.60	90.01	93.60	91.22	90.18
8	91.20	90.71	89.29	91.12	91.25	90.97
9	91.67	91.05	90.20	92.31	90.91	90.22
10	92.65	89.48	89.36	92.07	90.81	90.36
<b>Rata-Rata</b>	92.23	90.64	90.31	92.12	91.43	90.71
<b>SD</b>	0.77	0.64	0.79	1.06	0.78	0.54

**KAMBING KACANG**

----- Kolmogorov - Smirnov Goodness of Fit Test -----

Test distribution - Normal

Mean : 91.0603

Standard Deviation : 1.1051

Cases : 30

Most extreme differences

Absolute	Positive	Negative	K-S Z	2-Tailed P
0.09058	0.09058	-0.06551	0.4961	0.9664

**Levene Test for Homogeneity of Variance**

Statistic	df 1	df 2	2-tail Sig
0.6692	2	27	0.520

----- ONE-WAY ANOVA -----

GROUP	MEAN	N
1	92.226	10
2	90.637	10
3	90.310	10
<b>GRAND MEAN</b>	<b>91.058</b>	<b>30</b>

SOURCE	SUM OF SQUARES	DF	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB
BETWEEN	21.010	2	10.505	19.489	5.775E-06
WITHIN	14.554	27	0.538		
TOTAL	35.563	29			

s . berbeda nyata (P<0.05)

$$\begin{aligned}
 \text{BNT} &= \frac{1}{2} (df) \sqrt{\frac{2 \cdot KTS}{n}} \\
 &= \frac{1}{2} (0.027, 27) \sqrt{\frac{2 \times 0.538}{10}} \\
 &= 2.05 \times 0.328 \\
 &= 0.672
 \end{aligned}$$

Perlakuan	Rata-Rata	K-3	K-2	K-1
K-3	90,31 <sup>a</sup>	90,31 <sup>a</sup>	0,31	1,92 <sup>a</sup>
K-2	90,64 <sup>a</sup>			1,50 <sup>a</sup>
K-1	92,23 <sup>b</sup>			

Tanda huruf yang berbeda pada kolom atau baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ )

**KAMBING PERANAKAN ETAWAH**  
Kolmogorov – Smirnov Goodness of Fit Test

Test distribution	Normal	Mean	91,4183	
		Standart Deviation		0,9815
Cases	30			
Most extreme differences				
Absolute	Positive	Negative	K-S Z	2-Tailed P
0,12860	0,12860	-0,10399	0,7044	0,7039

**Levene Test for Homogeneity of Variances**

Statistic	df 1	df 2	2-tail Sig.
2,1174	2	27	0,140

**ONE-WAY ANOVA**

GROUP	MEAN	N
1	92,118	10
2	91,425	10
3	90,712	10
GRAND MEAN	91,418	30

SOURCE	SUM OF SQUARES	D.F.	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB
BETWEEN	9,885	2	4,942	7,319	2,836E-03 <sup>*</sup>
WITHIN	18,166	27	0,673		
TOTAL	28,051	29			

s. berbeda nyata ( $P < 0,05$ )

$$\begin{aligned} \text{BNT} &= \frac{t_{\alpha} (df) \sqrt{2 \cdot \text{KTS}}}{2} \\ &= \frac{t_{0,025}(27) \sqrt{2 \times 0,673}}{10} \\ &= 2,05 \times 0,367 \\ &= 0,752 \end{aligned}$$

Perlakuan	Rata-Rata	P-3	P-2	P-1
P-3	90,71 <sup>a</sup>	90,71 <sup>a</sup>	0,72	1,41 <sup>a</sup>
P-2	91,43 <sup>ab</sup>			0,69
P-1	92,12 <sup>b</sup>			

Tanda huruf yang berbeda pada kolom atau baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ )



**Lampiran 6. Perbedaan motilitas spermatozoa dari semen kambing kacang dan kambing peranakan etawah (%).**

**KAMBING UMUR MUDA**

----- Kolmogorov - Smirnov Goodness of Fit Test -----

Test distribution - Normal	Mean	92.1720		
	Standart Deviation		.09008	
Cases: 20				
Most extreme differences				
Absolute	Positive	Negative	K-S Z	2-Tailed P
0.14059	0.11133	-0.14059	0.6278	0.8241

**Levene's Test for Equality of Variances**

F	P
0.709	0.411

----- **HYPOTHESIS TEST FOR MEANS** -----  
**DIFFERENCE BETWEEN TWO GROUP MEANS: POOLED ESTIMATE VARIANCE**

		GROUP 1	GROUP 2
MEAN	=	92.2260	92.1180
STD. DEV.	=	0.7688	1.0562
N	=	10	10
DIFFERENCE		-	0.1080
STD. ERROR OF DIFFERENCE		-	0.4131
T	=	0.2614	( D.F = 18 )
PROB	=	0.3984 <sup>m</sup>	
ns. tidak berbeda nyata (P>0.05)			
		GROUP 1	KAMBING KACANG
		GROUP 2	KAMBING PE

**KAMBING UMUR SEDANG**

----- Kolmogorov - Smirnov Goodness of Fit Test -----

Test distribution - Normal	Mean	91.0350		
	Standart Deviation		0.7990	
Cases: 20				
Most extreme differences				
Absolute	Positive	Negative	K-S Z	2-Tailed P
0.13750	0.13750	-0.09364	0.6149	0.8439

**Levene's Test for Equality of Variances**

F	P
0.563	0.463

----- **HYPOTHESIS TEST FOR MEANS** -----  
**DIFFERENCE BETWEEN TWO GROUP MEANS : POOLED ESTIMATE VARIANCE**

			GROUP 1	GROUP 2
MEAN	-		90.6370	91.4250
STD DEV	-		0.6388	0.7813
N			10	10
<b>DIFFERENCE</b>				- 0.7880
<b>STD ERROR OF DIFFERENCE</b>				- 0.3191
<b>T</b>	-	-2.4691	(DF = 18)	GROUP 1 GROUP 2
				KAMBING KACANG KAMBING PE
<b>PROB</b>	-	0.0119*		
		s berbeda nyata (P<0.05)		

**KAMBING UMUR TUA**  
 Kolmogorov - Smirnov Goodness of Fit Test

---

Test distribution	Normal	Mean	90.5110	
		Standard Deviation	0.6883	
Cases	20			
Most extreme differences				
Absolute	Positive	Negative	K-S Z	2-Tailed P
0.11529	0.08683	-0.11529	0.5156	0.9531
<b>Levene's Test for Equality of Variances</b>				
	F	P		
	1.839	0.192		

----- **HYPOTHESIS TEST FOR MEANS** -----  
**DIFFERENCE BETWEEN TWO GROUP MEANS : POOLED ESTIMATE VARIANCE**

			GROUP 1	GROUP 2
MEAN	-		90.3100	90.7120
STD DEV	-		0.7861	0.5407
N	-		10	10
<b>DIFFERENCE</b>				- 0.4020
<b>STD ERROR OF DIFFERENCE</b>				- 0.3017
<b>T</b>	-	-1.3324	(DF = 18)	GROUP 1 GROUP 2
				KAMBING KACANG KAMBING PE
<b>PROB</b>	-	0.0997 <sup>ns</sup>		
		ns tidak berbeda nyata (P>0.05)		

**Lampiran 7. Perbedaan persentase hidup spermatozoa dari semen kambing umur muda, sedang dan tua (%).**

Ulangan	Kambing Kacang			Kambing PE		
	Muda (K-1)	Sedang (K-2)	Tua (K-3)	Muda (P-1)	Sedang (P-2)	Tua (P-3)
1	93.32	92.96	93.50	93.23	94.28	93.97
2	94.59	92.44	93.38	91.19	94.42	92.71
3	94.70	93.78	92.90	92.16	91.36	93.33
4	92.73	90.91	90.48	93.93	91.21	92.13
5	94.80	90.42	93.40	94.15	93.59	92.64
6	93.50	91.52	92.17	94.33	94.63	91.25
7	92.46	93.88	91.71	94.83	92.69	90.75
8	92.36	92.92	90.07	92.41	93.33	93.17
9	93.08	93.27	91.90	93.98	92.43	90.82
10	94.51	90.21	90.13	93.52	91.37	91.90
<b>Rata-Rata</b>	93.61	92.23	91.92	93.37	92.93	92.27
<b>SD</b>	0.97	1.37	1.30	1.13	1.32	1.09

**KAMBING KACANG**

----- Kolmogorov - Smirnov Goodness of Fit Test -----

Test distribution - Normal

Mean 92.5863  
Standard Deviation 1.3943

Cases 30

Most extreme differences

Absolute	Positive	Negative	K-S Z	2-Tailed P
0.10123	0.10123	-0.09457	0.5545	0.9183

**Levene Test for Homogeneity of Variances**

Statistic	df 1	df 2	2-tail Sig
0.8463	2	27	0.440

----- ONE-WAY ANOVA -----

GROUP	MEAN	N
1	93.605	10
2	92.231	10
3	91.924	10
<b>GRAND MEAN</b>	<b>92.587</b>	<b>30</b>

SOURCE	SUM OF SQUARES	DF	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB
BETWEEN	16.026	2	8.013	5.630	0.0110*
WITHIN	40.367	27	1.495		
TOTAL	56.394	29			

s berbeda nyata (P<0.05)

BNT --  $1 - \alpha (db) \sqrt{\frac{2 KTS}{n}}$   
 --  $1 - 0.05(27) \sqrt{\frac{2 \times 1.495}{10}}$   
 --  $2.05 \times 0.547$   
 -- 1.121

Perlakuan				
	Rata-Rata	K-3	K-2	K-1
		91.92 <sup>a</sup>	92.23 <sup>a</sup>	93.61 <sup>b</sup>
K-3	91.92 <sup>a</sup>	-	0.31	1.69 <sup>*</sup>
K-2	92.23 <sup>a</sup>		-	1.38 <sup>*</sup>
K-1	93.61 <sup>b</sup>			-

Tanda huruf yang berbeda pada kolom atau baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0.05$ ).

### KAMBING PERANAKAN ETAWAH

#### Kolmogorov - Smirnov Goodness of Fit Test

Test distribution: Normal

Mean: 92.8570

Standard Deviation: 1.2343

Cases: 30

Most extreme differences

Absolute: 0.11918

Positive: 0.11918

Negative: -0.10766

K-S Z: 0.6528

2-Tailed P: 0.7877

#### Levene Test for Homogeneity of Variances

Statistic	df1	df2	2-tail Sig.
0.4693	2	27	0.630

#### ONE-WAY ANOVA

GROUP	MEAN	N
1	93.373	10
2	92.931	10
3	92.267	10
GRAND MEAN	92.857	30

SOURCE	SUM OF SQUARES	D.F.	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB
BETWEEN	6.198	2	3.099	2.203	0.1299 <sup>ns</sup>
WITHIN	17.984	27	1.407		
TOTAL	44.182	29			

ns: tidak berbeda nyata ( $P > 0.05$ )

**Lampiran 8. Perbedaan persentase hidup spermatozoa dari semen kambing kacang dan kambing peranakan etawah (%).**

**KAMBING UMUR MUDA**

----- Kolmogorov – Smirnov Goodness of Fit Test -----

Test distribution – Normal Mean 93.4890  
Standart Deviation 1.0313

Cases 20  
Most extreme differences

Absolute	Positive	Negative	K-S Z	2-Tailed P
0.11554	0.09674	-0.11554	0.5167	0.9522

**Levene's Test for Equality of Variances**

F	P
0.077	0.784

----- HYPOTHESIS TEST FOR MEANS -----

**DIFFERENCE BETWEEN TWO GROUP MEANS : POOLED ESTIMATE VARIANCE**

		GROUP 1	GROUP 2
MEAN	-	93.6050	93.3730
STD DEV	-	0.9667	1.1317
N	-	10	10

DIFFERENCE	=	0.2320
STD ERROR OF DIFFERENCE	=	0.4707

T	-	0.4929	( D F = 18 )	GROUP 1	KAMBING KACANG
				GROUP 2	KAMBING PE

PROB - 0.3140<sup>m</sup>  
ns tidak berbeda nyata (P>0.05)

**KAMBING UMUR SEDANG**

----- Kolmogorov – Smirnov Goodness of Fit Test -----

Test distribution – Normal Mean 92.5810  
Standart Deviation 1.1573

Cases 20  
Most extreme differences

Absolute	Positive	Negative	K-S Z	2-Tailed P
0.13280	0.13280	-0.10571	0.5939	0.8723

**Levene's Test for Equality of Variances**

F	P
0.041	0.841

**HYPOTHESIS TEST FOR MEANS**  
**DIFFERENCE BETWEEN TWO GROUP MEANS : POOLED ESTIMATE VARIANCE**

		GROUP 1	GROUP 2
MEAN		92.2310	92.9310
STD. DEV		1.3688	1.3205
N	-	10	10
DIFFERENCE		= -0.7000	
STD. ERROR OF DIFFERENCE		= 0.6014	
T	= -1.1639 (D.F = 18)	GROUP 1	KAMBING KACANG
		GROUP 2	KAMBING PE
PROB	= 0.1298 <sup>m</sup>		
ns tidak berbeda nyata (P>0.05)			

**KAMBING UMUR TUA**  
**Kolmogorov - Smirnov Goodness of Fit Test**

Test distribution - Normal	Mean	92.0950		
	Standart Deviation	1.1792		
Cases 20				
Most extreme differences				
Absolute	Positive	Negative	K-S Z	2-Tailed P
0.11902	0.11020	-0.11902	0.5323	0.9395

**Levene's Test for Equality of Variances**

F	P
0.206	0.656

**HYPOTHESIS TEST FOR MEANS**  
**DIFFERENCE BETWEEN TWO GROUP MEANS : POOLED ESTIMATE VARIANCE**

		GROUP 1	GROUP 2
MEAN	-	91.9240	92.2670
STD. DEV.	-	1.2950	1.0936
N	-	10	10
DIFFERENCE		-0.3430	
STD. ERROR OF DIFFERENCE		0.5360	
T	= -0.6399 (D.F = 18)	GROUP 1	KAMBING KACANG
		GROUP 2	KAMBING PE
PROB	= 0.2651 <sup>m</sup>		
ns tidak berbeda nyata (P>0.05)			

**Lampiran 9. Perbedaan abnormalitas spermatozoa dari semen kambing umur muda, sedang dan tua (%).**

Ulangan	Kambing Kacang			Kambing PE		
	Muda (K-1)	Sedang (K-2)	Tua (K-3)	Muda (P-1)	Sedang (P-2)	Tua (P-3)
1	2.35	1.92	1.15	2.06	1.85	1.16
2	1.80	2.26	1.65	3.92	1.47	2.70
3	0.59	1.32	2.10	2.40	3.24	2.04
4	2.46	3.04	3.40	1.85	3.84	3.00
5	0.22	3.81	1.51	1.13	2.15	2.87
6	2.19	2.81	2.56	0.52	0.95	3.70
7	2.72	1.16	3.30	0.26	3.01	3.86
8	2.94	2.24	5.01	2.94	2.92	2.13
9	2.35	1.18	3.29	1.63	3.10	3.75
10	1.88	4.60	4.06	1.94	3.15	3.69
<b>Rata-Rata</b>	1.95	2.45	2.80	1.89	2.57	2.89
<b>SD</b>	0.89	1.13	1.23	1.08	0.91	0.90

**KAMBING KACANG**

**Kolmogorov – Smirnov Goodness of Fit Test**

Test distribution – Normal

Mean : 2.4023

Standard Deviation : 1.1100

Cases : 30

Most extreme differences

Absolute

0.08547

Positive

0.08547

Negative

-0.06295

K-S Z

0.4681

2-Tailed P

0.9808

**Levene Test for Homogeneity of Variances**

Statistic

0.8739

df 1

2

df 2

27

2-tail Sig

0.429

**ONE-WAY ANOVA**

GROUP	MEAN	N
1	1.950	10
2	2.454	10
3	2.803	10
GRAND MEAN	2.402	30

SOURCE	SUM OF SQUARES	DF	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB
BETWEEN	3.678	2	1.839	1.549	0.2308 <sup>m</sup>
WITHIN	32.056	27	1.187		
TOTAL	35.734	29			

ns tidak berbeda nyata (P>0.05)

**KAMBING PERANAKAN ETAWAH**  
**Kolmogorov – Smirnov Goodness of Fit Test**

Test distribution	Normal	Mean	2,4477	
		Standart Deviation		1,0262
Cases	30			
Most extreme differences				
Absolute	Positive	Negative	K-S Z	2-Tailed P
0,12633	0,08078	-0,12633	0,6919	0,7246

**Levene Test for Homogeneity of Variances**

Statistic	df 1	df 2	2-tail Sig
0,0369	2	27	0,964

**ONE-WAY ANOVA**

	GROUP	MEAN	N		
	1	1,885	10		
	2	2,568	10		
	3	2,890	10		
	GRAND MEAN	2,448	30		
<b>SOURCE</b>	<b>SUM OF SQUARES</b>	<b>DF</b>	<b>MEAN SQUARE</b>	<b>F RATIO</b>	<b>PROB</b>
BETWEEN	5,267	2	2,634	2,814	0,0776
WITHIN	29,274	27	0,936		
TOTAL	30,541	29			

ns tidak berbeda nyata (P>0,05)



**Lampiran 10. Perbedaan abnormalitas spermatozoa dari semen kambing kacang dan kambing peranakan etawah (%).**

**KAMBING UMUR MUDA**

----- Kolmogorov - Smirnov Goodness of Fit Test -----

Test distribution - Normal

	Mean	1,9175
	Standart Deviation	0,9606

Cases 20

Most extreme differences

Absolute	Positive	Negative	K-S Z	2-Tailed P
0,15132	0,11650	-0,15132	0,6767	0,7495

**Levene's Test for Equality of Variances**

	F		P
	0,137		0,716

---

**HYPOTHESIS TEST FOR MEANS**

**DIFFERENCE BETWEEN TWO GROUP MEANS : POOLED ESTIMATE VARIANCE**

		GROUP 1	GROUP 2
MEAN	=	1,9500	1,8850
STD DEV	=	0,8870	1,0766
N	=	10	10

			DIFFERENCE	=	0,0650
			STD ERROR OF DIFFERENCE		0,4411

T	=	0,1474	( D F = 18 )	GROUP 1	KAMBING KACANG
				GROUP 2	KAMBING PE

PROB = 0,4422<sup>m</sup>  
ns tidak berbeda nyata (P>0,05)

**KAMBING UMUR SEDANG**

----- Kolmogorov - Smirnov Goodness of Fit Test -----

Test distribution - Normal

	Mean	2,5110
	Standart Deviation	0,9996

Cases 20

Most extreme differences

Absolute	Positive	Negative	K-S Z	2-Tailed P
0,11757	0,10115	-0,11757	0,5258	0,9450

**Levene's Test for Equality of Variances**

	F		P
	0,248		0,624

-----**HYPOTHESIS TEST FOR MEANS**-----  
**DIFFERENCE BETWEEN TWO GROUP MEANS ; POOLED ESTIMATE VARIANCE**

		GROUP 1	GROUP 2
MEAN	-	2.4540	2.5680
STD DEV	-	1.1253	0.9144
N	-	10	10
DIFFERENCE		=	-0.1140
STD ERROR OF DIFFERENCE		=	0.4585
T	=	-0.2486 (D.F. 18)	GROUP 1 GROUP 2
			KAMBING KACANG KAMBING PE
PROB	=	0.4032 <sup>ns</sup>	
ns tidak berbeda nyata (P>0.05)			

**KAMBING UMUR TUA**  
 -----**Kolmogorov - Smirnov Goodness of Fit Test**-----

Test distribution	Normal	Mean	2.8465
		Standard Deviation	1.0497
Cases	20		
Most extreme differences			
Absolute	Positive	Negative	K-S Z
0.11367	0.10257	-0.11367	0.5084
			2-Tailed P
			0.9583

**Levene's Test for Equality of Variances**

F	P
1.418	0.249

-----**HYPOTHESIS TEST FOR MEANS**-----  
**DIFFERENCE BETWEEN TWO GROUP MEANS ; POOLED ESTIMATE VARIANCE**

		GROUP 1	GROUP 2
MEAN	-	2.8030	2.8900
STD DEV	-	1.2283	0.9017
N	-	10	10
DIFFERENCE		=	-0.0870
STD ERROR OF DIFFERENCE		=	0.4819
T	=	-0.1806 (D.F. 18)	GROUP 1 GROUP 2
			KAMBING KACANG KAMBING PE
PROB	=	0.4294 <sup>ns</sup>	
ns tidak berbeda nyata (P>0.05)			

**Lampiran 11. Perbedaan integritas membran spermatozoa dari semen kambing umur muda, sedang dan tua (%).**

Ulangan	Kambing Kacang			Kambing PE		
	Muda (K-1)	Sedang (K-2)	Tua (K-3)	Muda (P-1)	Sedang (P-2)	Tua (P-3)
1	88.06	86.34	85.40	87.97	88.56	87.67
2	88.96	85.35	84.87	86.20	88.77	86.44
3	89.60	86.57	84.79	86.83	86.36	87.35
4	87.72	84.83	83.68	88.39	86.33	86.23
5	89.97	84.75	85.33	88.95	87.72	86.34
6	88.18	85.22	84.56	89.68	88.89	85.27
7	87.62	86.93	83.71	89.86	87.53	84.80
8	87.02	85.68	83.60	86.61	87.65	86.94
9	87.96	86.41	83.94	88.60	86.98	84.83
10	88.69	84.51	83.66	88.16	86.55	85.57
<b>Rata-Rata</b>	88.38	85.66	84.35	88.13	87.53	86.14
<b>SD</b>	0.92	0.86	0.72	1.25	0.98	1.01

**KAMBING KACANG**

----- Kolmogorov - Smirnov Goodness of Fit Test -----

Test distribution – Normal

Cases : 30

Most extreme differences

Absolute	Positive	Negative	K-S Z	2-Tailed P
0.15071	0.15071	-0.08986	0.8255	0.5033

Mean 86.1303  
Standart Deviation 1.8860

**Levent Test for Homogeneity of Variances**

Statistic	df 1	df 2	2-tail Sig
0.2193	2	27	0.805

----- ONE-WAY ANOVA -----

GROUP	MEAN	N
1	88.378	10
2	85.659	10
3	84.354	10
<b>GRAND MEAN</b>	86.130	30

SOURCE	SUM OF SQUARES	D.F.	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB
BETWEEN	84.295	2	42.148	60.332	1.092E-10
WITHIN	18.862	27	0.699		
TOTAL	103.157	29			

s. berbeda nyata ( $P < 0.05$ )

$$\begin{aligned}
 \text{BNT} &= \frac{t_{\alpha}(\text{db}) \sqrt{2 \text{KTS}}}{2} \\
 &= \frac{t_{(0.05; 27)} \sqrt{2 \times 0.699}}{10} \\
 &= 2.05 \times 0.374 \\
 &= 0.767
 \end{aligned}$$

Perlakuan				
	Rata-Rata	K-3	K-2	K-1
		84.35 <sup>a</sup>	85.66 <sup>b</sup>	88.38 <sup>c</sup>
K-3	84.35 <sup>a</sup>	-	1.31*	4.03*
K-2	85.66 <sup>b</sup>			2.72*
K-1	88.38 <sup>c</sup>			-

Tanda huruf yang berbeda pada kolom atau baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0.05$ )

**KAMBING PERANAKAN ETAWAR**  
 -----  
**Kolmogorov - Smirnov Goodness of Fit Test**  
 -----

Test distribution - Normal

Mean 87.2677  
 Standard Deviation 1.3460

Cases 30

Most extreme differences

Absolute	Positive	Negative	K-S Z	2-Tailed P
0.08744	0.08744	-0.08744	0.4789	0.9758

**Levene Test for Homogeneity of Variances**

Statistic	df1	df2	2-tail Sig
0.3045	2	27	0.740

-----  
**ONE-WAY ANOVA**  
 -----

GROUP	MEAN	N
1	88.125	10
2	87.534	10
3	86.144	10
GRAND MEAN	87.268	30

SOURCE	SUM OF SQUARES	D F	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB
BETWEEN	20.666	2	10.434	8.767	.1165E-03
WITHIN	31.855	27	1.180		
TOTAL	52.540	29			

s<sup>2</sup> berbeda nyata ( $P < 0.05$ )

$$\begin{aligned}
 \text{BNT} &= \frac{t_{\alpha} (db) \sqrt{2 \cdot KTS}}{2} \\
 &= \frac{t_{0.025(27)} \sqrt{2 \times 1.180}}{2} \\
 &= 2.05 \times 0.486 \\
 &= 0.996
 \end{aligned}$$

Perlakuan				
	Rata-Rata	P-3	P-2	P-1
		86.14 <sup>a</sup>	87.53 <sup>b</sup>	88.13 <sup>b</sup>
P-3	86.14 <sup>a</sup>	-	1.39*	1.99*
P-2	87.53 <sup>b</sup>			0.60
P-1	88.13 <sup>b</sup>			-

Tanda huruf yang berbeda pada kolom atau baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0.05$ )

**Lampiran 12. Perbedaan integritas membran spermatozoa dari semen kambing kacang dan kambing peranakan etawah (%).**

<b>KAMBING UMUR MUDA</b>				
<b>Kolmogorov – Smirnov Goodness of Fit Test</b>				
Test distribution	Normal		Mean	88.2515
			Standart Deviation	1.0775
Cases	20			
Most extreme differences				
Absolute	Positive	Negative	K-S Z	2-Tailed P
0.09463	0.07645	-0.09463	0.4232	0.9940
<b>Levene's Test for Equality of Variances</b>				
	F	P		
	0.754	0.397		
<b>HYPOTHESIS TEST FOR MEANS</b>				
<b>DIFFERENCE BETWEEN TWO GROUP MEANS : POOLED ESTIMATE VARIANCE</b>				
		GROUP 1	GROUP 2	
MEAN	-	88.3780	88.1250	
STD DEV	-	0.9208	1.2520	
N	-	10	10	
		DIFFERENCE		= 0.2530
		STD ERROR OF DIFFERENCE		= 0.4915
T	0.5148	(DF = 18)	GROUP 1	KAMBING KACANG
			GROUP 2	KAMBING PE
PROB	0.3065 <sup>**</sup>			
	ns tidak berbeda nyata (P>0.05)			
<b>KAMBING UMUR SEDANG</b>				
<b>Kolmogorov – Smirnov Goodness of Fit Test</b>				
Test distribution	Normal		Mean	86.5965
			Standart Deviation	1.3128
Cases	20			
Most extreme differences				
Absolute	Positive	Negative	K-S Z	2-Tailed P
0.11957	0.10805	-0.11957	0.5347	0.9373
<b>Levene's Test for Equality of Variances</b>				
	F	P		
	0.078	0.783		

---

**HYPOTHESIS TEST FOR MEANS**  
**DIFFERENCE BETWEEN TWO GROUP MEANS : POOLED ESTIMATE VARIANCE**

		GROUP 1	GROUP 2	
MEAN	=	85.6590	87.5340	
STD DEV	=	0.8561	0.9758	
N	=	10	10	
DIFFERENCE				= -1.8750
STD ERROR OF DIFFERENCE				= 0.4105
T	=	-4.5676	( D.F = 18 )	GROUP 1 GROUP 2
			KAMBING KACANG	
			KAMBING PE	
PROB	=	1.193E-04 <sup>*</sup>		
s berbeda nyata (P<0.05)				

**KAMBING UMUR TUA**

**Kolmogorov – Smirnov Goodness of Fit Test**

Test distribution – Normal		Mean	85.2490	
		Standart Deviation	1.2531	
Cases	20			
Most extreme differences				
Absolute	Positive	Negative	K-S Z	2-Tailed P
0.11885	0.11885	-0.09409	0.5315	0.9402

**Levene's Test for Equality of Variances**

F	P
1.021	0.326

---

**HYPOTHESIS TEST FOR MEANS**  
**DIFFERENCE BETWEEN TWO GROUP MEANS : POOLED ESTIMATE VARIANCE**

		GROUP 1	GROUP 2	
MEAN	=	84.3540	86.1440	
STD DEV	=	0.7177	1.0098	
N	=	10	10	
DIFFERENCE				= -1.7900
STD ERROR OF DIFFERENCE				= 0.3918
T	=	-4.5692	( D.F = 18 )	GROUP 1 GROUP 2
			KAMBING KACANG	
			KAMBING PE	
PROB	=	1.189E-04 <sup>*</sup>		
s berbeda nyata (P<0.05)				

**Lampiran 13. Perbedaan aktivitas SOD total dari semen kambing umur muda, sedang dan tua (Unit/m semen).**

Ulangan	Kambing Kacang			Kambing PE		
	Muda (K-1)	Sedang (K-2)	Tua (K-3)	Muda (P-1)	Sedang (P-2)	Tua (P-3)
1	8,92	8,08	8,05	7,49	7,16	7,04
2	9,10	7,98	7,39	7,14	7,54	6,75
3	9,11	8,31	7,33	7,41	6,68	6,94
4	8,88	7,87	6,78	7,54	6,53	6,60
5	9,36	7,71	8,00	7,64	6,93	6,63
6	8,95	7,80	7,33	7,06	7,67	6,30
7	8,81	8,24	6,90	8,14	6,84	6,18
8	8,62	8,03	6,71	7,35	6,90	6,85
9	8,89	8,27	7,23	7,58	6,82	6,27
10	9,00	7,76	6,75	7,52	6,74	6,37
<b>Rata-Rata</b>	8,96	8,07	7,25	7,58	6,98	6,59
<b>SD</b>	0,20	0,30	0,49	0,29	0,37	0,30

#### KAMBING KACANG

#### Kalmogorov - Smirnov Goodness of Fit Test

Test distribution - Normal

Mean 8,0927

Standard Deviation

0,7876

Cases 30

Most extreme differences

Absolute

0,12413

Positive

0,08051

Negative

-0,12413

K-S Z

0,6799

2-tailed P

0,7444

#### Levene Test for Homogeneity of Variances

Statistic

3,1128

df1

2

df2

27

2-tail Sig

0,061

#### ONE-WAY ANOVA

GROUP	MEAN	N
1	8,964	10
2	8,069	10
3	7,247	10
<b>GRAND MEAN</b>	<b>8,093</b>	<b>30</b>

SOURCE	SUM OF SQUARES	DF	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB
BETWEEN	14,749	2	7,385	60,774	1,007E-10 <sup>*</sup>
WITHIN	3,276	27	0,121		
TOTAL	18,026	29			

s. berbeda nyata ( $P < 0,05$ )

$$\begin{aligned}
 \text{BNT} &= \frac{1 \alpha (\text{db}) \sqrt{2 \text{KTS}}}{2} \\
 &= \frac{1,025 (27) \sqrt{2 \times 0,121}}{10} \\
 &= 2,05 \times 0,156 \\
 &= 0,32
 \end{aligned}$$

Perlakuan				
	Rata-Rata	K-3	K-2	K-1
		7.25 <sup>a</sup>	8.07 <sup>b</sup>	8.96 <sup>c</sup>
K-3	7.25 <sup>a</sup>	-	0.82 <sup>a</sup>	1.71 <sup>a</sup>
K-2	8.07 <sup>b</sup>		-	0.89 <sup>a</sup>
K-1	8.96 <sup>c</sup>			-

Tanda huruf yang berbeda pada kolom atau baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0.05)

**KAMBING PERANAKAN ETAWAH**

**Kolmogorov – Smirnov Goodness of Fit Test**

Test distribution – normal

Mean 7.0497  
Standart Deviation 0.5169

Cases 30

Most extreme differences

Absolute	Positive	Negative	K-S Z	2-Tailed P
0.11735	0.11735	-0.10287	0.6427	0.8032

**Levene Test for Homogeneity of Variances**

Statistic	df 1	df 2	2-tail Sig.
0.4973	2	27	0.614

**ONE-WAY ANOVA**

GROUP	MEAN	N
1	7.578	10
2	6.978	10
3	6.593	10
GRAND MEAN	7.050	30

SOURCE	SUM OF SQUARES	D F	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB
BETWEEN	4.958	2	2.464	23.596	1.185E-06 <sup>a</sup>
WITHIN	2.820	27	0.104		
TOTAL	7.748	29			

s : berbeda nyata (P<0.05)

$$BNT = \frac{t_{\alpha} (df) \sqrt{2 K \frac{S}{n_i}}}{t_{\alpha} (27) \sqrt{2 \times 0.104 / 10}}$$

$$= 2.05 \times 0.144$$

$$= 0.295$$

Perlakuan				
	Rata-Rata	P-3	P-2	P-1
		6.59 <sup>a</sup>	6.98 <sup>b</sup>	7.58 <sup>c</sup>
P-3	6.59 <sup>a</sup>	-	0.39 <sup>a</sup>	0.99 <sup>a</sup>
P-2	6.98 <sup>b</sup>		-	0.66 <sup>a</sup>
P-1	7.58 <sup>c</sup>			-

Tanda huruf yang berbeda pada kolom atau baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0.05)



**Lampiran 14. Perbedaan aktivitas SOD total dari semen kambing kacang dan kambing peranakan etawah (Unit/ml semen).**

**KAMBING UMUR MUDA**

----- Kolmogorov - Smirnov Goodness of Fit Test -----

Test distribution - Normal

	Mean	: 8.2700
	Standart Deviation	: 0.7498

Cases: 20

Most extreme differences

Absolute	Positive	Negative	K-S Z	2-Tailed P
0.21429	0.19585	-0.21429	0.9584	0.3173

**Levene's Test for Equality of Variances**

F	P
0.682	0.420

----- **HYPOTHESIS TEST FOR MEANS** -----

**DIFFERENCE BETWEEN TWO GROUP MEANS : POOLED ESTIMATE VARIANCE**

	GROUP 1	GROUP 2
MEAN	= 8.9640	7.5780
STD. DEV	= 0.1985	0.2890
N	= 10	10
DIFFERENCE		= 1.3860
STD. ERROR OF DIFFERENCE		= 0.1109
T	= 12.5017 ( D.F = 18 )	GROUP 1 KAMBING KACANG GROUP 2 KAMBING PE
PROB	= 3.302E-10*	
s berbeda nyata (P<0.05)		

**KAMBING UMUR SEDANG**

----- Kolmogorov - Smirnov Goodness of Fit Test -----

Test distribution - Normal

	Mean	7.5235
	Standart Deviation	0.6488

Cases: 20

Most extreme differences

Absolute	Positive	Negative	K-S Z	2-Tailed P
0.16984	0.16984	-0.14226	0.7595	0.6111

**Levene's Test for Equality of Variances**

F	P
0.515	0.482



**Lampiran 15. Perbedaan aktivitas SOD spesifik dari semen kambing umur muda, sedang dan tua (Unit/mg protein).**

Ulangan	Kambing Kacang			Kambing PE		
	Muda (K-1)	Sedang (K-2)	Tua (K-3)	Muda (P-1)	Sedang (P-2)	Tua (P-3)
1	13.91	12.58	10.42	11.93	11.33	9.03
2	14.20	12.43	9.56	11.38	11.93	8.66
3	14.21	12.94	9.48	11.81	10.52	8.90
4	13.85	12.26	8.77	12.01	10.33	8.47
5	14.60	12.10	10.35	12.19	10.96	8.50
6	13.96	12.29	9.48	12.68	12.13	8.08
7	13.74	13.60	8.93	12.97	10.82	7.93
8	13.45	12.51	8.68	11.71	10.92	8.79
9	13.87	12.69	9.35	12.08	10.79	8.04
10	14.04	12.08	8.73	11.98	10.66	8.17
<b>Rate-Rate</b>	13.98	12.57	9.38	12.07	11.04	8.46
<b>SD</b>	0.31	0.47	0.63	0.46	0.59	0.39

**KAMBING KACANG**

Kolmogorov-Smirnov Goodness of Fit Test

Test distribution - Normal

Mean : 11.9750

Standard Deviation : 2.0155

Cases : 30

Most extreme differences

Absolute	Positive	Negative	K-S Z	2-Tailed P
0.18744	0.15125	-0.18744	1.0267	0.2425

Levene Test for Homogeneity of Variances

Statistic	df 1	df 2	2-tail Sig.
1.9391	2	27	0.163

**ONE-WAY ANOVA**

GROUP	MEAN	N
1	13.983	10
2	12.567	10
3	9.375	10
<b>GRAND MEAN</b>	<b>11.975</b>	<b>30</b>

SOURCE	SUM OF SQUARES	D.F.	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB
BETWEEN	111.425	2	55.713	235.875	0.000E+00 <sup>*</sup>
WITHIN	6.377	27	0.236		
TOTAL	117.803	29			

s : berbeda nyata (P<0.05)

$$\begin{aligned}
 \text{BNT} &= \frac{t_{\alpha} (db) \sqrt{2 \cdot KTS}}{2} \\
 &= \frac{t_{0.025 (27)} \sqrt{2 \times 0.236}}{10} \\
 &= 2.05 \times 0.217 \\
 &= 0.445
 \end{aligned}$$

Perlakuan				
	Rata-Rata	K-3	K-2	K-1
		09.38 <sup>a</sup>	12.57 <sup>b</sup>	13.98 <sup>c</sup>
K-3	09.38 <sup>a</sup>	-	3.19*	4.60*
K-2	12.57 <sup>b</sup>		-	1.41*
K-1	13.98 <sup>c</sup>			-

Tanda huruf yang berbeda pada kolom atau baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0.05)

### KAMBING PERANAKAN ETAWAH

#### Kolmogorov - Smirnov Goodness of Fit Test

Test distribution - Normal

Mean : 10.5233

Standard Deviation : 1.6164

Cases 30

Most extreme differences

Absolute	Positive	Negative	K-S Z	2-Tailed P
0.15555	0.15555	-0.13523	0.8520	0.4623

#### Levene Test for Homogeneity of Variances

Statistic	df 1	df 2	2-tail Sig
0.7019	2	27	0.504

#### ONE-WAY ANOVA

GROUP	MEAN	N
1	12.074	10
2	11.039	10
3	8.457	10
GRAND MEAN	10.523	30

SOURCE	SUM OF SQUARES	D.F.	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB
BETWEEN	64.402	2	34.701	147.067	0.000E+00 <sup>a</sup>
WITHIN	6.371	27	0.236		
TOTAL	75.773	29			

s : berbeda nyata (P<0.05)

$$\begin{aligned}
 \text{BNT} &= \frac{1}{2} \left( \frac{df}{ni} \right) \sqrt{2 \times \frac{MS}{n}} \\
 &= \frac{1}{2} \left( \frac{2}{10} \right) \sqrt{2 \times \frac{0.236}{10}} \\
 &= 2.05 \times 0.217 \\
 &= 0.445
 \end{aligned}$$

Perlakuan				
	Rata-Rata	P-3	P-2	P-1
		08.46 <sup>a</sup>	11.04 <sup>b</sup>	12.07 <sup>c</sup>
P-3	08.46 <sup>a</sup>	-	2.58*	3.61*
P-2	11.04 <sup>b</sup>		-	1.03*
P-1	12.07 <sup>c</sup>			-

Tanda huruf yang berbeda pada kolom atau baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0.05)

**Lampiran 16. Perbedaan aktivitas SOD spesifik dari semen kambing kacang dan kambing peranakan etawah (Unit/mg protein).**

<b>KAMBING UMUR MUDA</b>				
----- Kolmogorov – Smirnov Goodness of Fit Test -----				
Test distribution - Normal			Mean	13.0285
			Standart Deviation	1.0509
Cases	20			
Most extreme differences				
Absolute	Positive	Negative	K-S Z	2-Tailed P
0.20080	0.18753	-0.20080	0.8980	0.3955
<b>Levene's Test for Equality of Variances</b>				
	F	P		
	0.763	0.394		
<b>HYPOTHESIS TEST FOR MEANS</b>				
<b>DIFFERENCE BETWEEN TWO GROUP MEANS : POOLED ESTIMATE VARIANCE</b>				
		GROUP 1	GROUP 2	
MEAN	-	13.9830	12.0740	
STD DEV	-	0.3095	0.4596	
N	-	10	10	
DIFFERENCE	-		1.9090	
STD. ERROR OF DIFFERENCE	-		0.1752	
T	10.8951	( D.F - 18 )	GROUP 1	KAMBING KACANG
			GROUP 2	KAMBING PE
PROB	-	1.175E-09 <sup>2</sup>		
s	berbeda nyata (P<0.05)			
<b>KAMBING UMUR SEDANG</b>				
----- Kolmogorov – Smirnov Goodness of Fit Test -----				
Test distribution - Normal			Mean	11.8030
			Standart Deviation	0.9387
Cases	20			
Most extreme differences				
Absolute	Positive	Negative	K-S Z	2-Tailed P
0.16604	0.16542	-0.16604	0.7425	0.6397
<b>Levene's Test for Equality of Variances</b>				
	F	P		
	0.585	0.454		

**-----HYPOTHESIS TEST FOR MEANS-----**  
**DIFFERENCE BETWEEN TWO GROUP MEANS ; POOLED ESTIMATE VARIANCE**

	GROUP 1	GROUP 2
MEAN	12.5670	11.0390
STD DEV	0.4658	0.5883
N	10	10

DIFFERENCE - 1.5280  
 STD ERROR OF DIFFERENCE - 0.2373

T 6.4194 (DF = 18) GROUP 1 KAMBING KACANG  
 GROUP 2 KAMBING PE

PROB = 2.320E-06<sup>\*</sup>

s berbeda nyata (P<0.05)

**KAMBING USUR TUA**

**-----Kolmogorov-Smirnov Goodness of Fit Test-----**

Test distribution - Normal

Mean 8.9160  
 Standard Deviation 0.6932

Cases 20

Most extreme differences

Absolute	Positive	Negative	K-S Z	2-Tailed P
0.14194	0.14194	-0.08071	0.6348	0.8151

**Levene's Test for Equality of Variances**

F	P
1.512	0.235

**-----HYPOTHESIS TEST FOR MEANS-----**  
**DIFFERENCE BETWEEN TWO GROUP MEANS ; POOLED ESTIMATE VARIANCE**

	GROUP 1	GROUP 2
MEAN	9.3750	8.4570
STD DEV	0.6292	0.3880
N	10	10

DIFFERENCE 0.9180  
 STD ERROR OF DIFFERENCE - 0.2337

T 3.9273 (DF = 18) GROUP 1 KAMBING KACANG  
 GROUP 2 KAMBING PE

PROB = 4.937E-04<sup>\*</sup>

s berbeda nyata (P<0.05)

**Lampiran 17. Perbedaan aktivitas katalase total dari semen kambing umur muda, sedang dan tua (Unit/ml semen).**

Ulangan	Kambing Kacang			Kambing PE		
	Muda (K-1)	Sedang (K-2)	Tua (K-3)	Muda (P-1)	Sedang (P-2)	Tua (P-3)
1	17.69	17.66	17.63	17.85	17.79	17.76
2	17.76	17.63	17.60	17.79	17.79	17.69
3	17.76	17.69	17.57	17.82	17.69	17.73
4	17.66	17.60	17.48	17.88	17.66	17.66
5	17.79	17.57	17.60	17.94	17.76	17.66
6	17.69	17.60	17.54	17.94	17.82	17.63
7	17.63	17.73	17.51	17.97	17.73	17.60
8	17.63	17.63	17.45	17.82	17.73	17.73
9	17.66	17.69	17.54	17.91	17.69	17.60
10	17.73	17.57	17.45	17.88	17.66	17.63
<b>Rata-Rata</b>	17.70	17.64	17.54	17.88	17.73	17.67
<b>SD</b>	0.06	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06

#### KAMBING KACANG

#### Kolmogorov-Smirnov Goodness of Fit Test

Test distribution - Normal

Mean 17.6247

Standard Deviation

0.0887

Cases: 30

Most extreme differences

Absolute

Positive

Negative

K-S Z

2-tailed P

0.09065

0.07602

-0.09065

0.4965

0.9661

#### Levene Test for Homogeneity of Variances

Statistic

df1

df2

2-tail Sig

0.1493

2

27

0.862

#### ONE-WAY ANOVA

GROUP	MEAN	N
1	17.700	10
2	17.637	10
3	17.537	10
<b>GRAND MEAN</b>	17.625	30

SOURCE	SUM OF SQUARES	DF	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB
BETWEEN	0.135	2	0.068	19.653	5.400E-06 <sup>a</sup>
WITHIN	0.693	27	3.4378E-03		
TOTAL	0.228	29			

a. berbeda nyata ( $P < 0.05$ )

$$\begin{aligned}
 \text{BNT} &= t_{\alpha} (db) \sqrt{\frac{2 \cdot KTS}{n_i}} \\
 &= t_{0.05/2, 27} \sqrt{\frac{2 \times 0.003}{10}} \\
 &= 2.05 \times 0.024 \\
 &= 0.049
 \end{aligned}$$

Perlakuan				
	Rata-Rata	K-3	K-2	K-1
		17.54 <sup>a</sup>	17.64 <sup>b</sup>	17.70 <sup>c</sup>
K-3	17.54 <sup>a</sup>	-	0.10*	0.16*
K-2	17.64 <sup>b</sup>		-	0.07*
K-1	17.70 <sup>c</sup>			-

Tanda huruf yang berbeda pada kolom atau baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0.05).

**KAMBING PERANAKAN ETAWAI**

----- Kolmogorov - Smirnov Goodness of Fit Test -----

Test distribution	Normal	Mean	17.7603	Standart Deviation	0.1059
Cases	30				
Most extreme differences					
Absolute	Positive	Negative	K-S Z	2-Tailed P	
0.11341	0.11341	-0.07081	0.6212	0.8350	

**Levene Test for Homogeneity of Variances**

Statistic	df1	df2	2-tail Sig
0.0078	2	27	0.992

----- ONE-WAY ANOVA -----

GROUP	MEAN	N
1	17.880	10
2	17.732	10
3	17.669	10
GRAND MEAN	17.760	30

SOURCE	SUM OF SQUARES	D F	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB
BETWEEN	0.235	2	0.117	35.022	3.158E-08 <sup>a</sup>
WITHIN	0.090	27	3.3500E-03		
TOTAL	0.325	29			

s. berbeda nyata (P<0.05)

$$\begin{aligned}
 \text{BNT} &= \frac{1}{2} \left( \frac{df}{ni} \right) \sqrt{2 \cdot K \cdot F} \\
 &= \left( \frac{0.025}{10} \right) \sqrt{2 \cdot 3 \cdot 0.003} \\
 &= 2.05 \times 0.024 \\
 &= 0.049
 \end{aligned}$$

Perlakuan				
	Rata-Rata	P-3	P-2	P-1
		17.67 <sup>a</sup>	17.73 <sup>b</sup>	17.88 <sup>c</sup>
P-3	17.67 <sup>a</sup>	-	0.06*	0.21*
P-2	17.73 <sup>b</sup>		-	0.15*
P-1	17.88 <sup>c</sup>			-

Tanda huruf yang berbeda pada kolom atau baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0.05)



**Lampiran 18. Perbedaan aktivitas katalase total dari semen kambing kacang dan kambing peranakan etawah (Unit/ml semen).**

**KAMBING UMUR MUDA**

----- Kolmogorov – Smirnov Goodness of Fit Test -----

Test distribution – Normal	Mean	17.7900		
	Standard Deviation		1.1085	
Cases	20			
Most extreme differences				
Absolute	Positive	Negative	K-S Z	2-Tailed P
0.12158	0.12158	-0.09652	0.5437	0.9290

**Levene's Test for Equality of Variances**

F	P
0.000	1.000

----- **HYPOTHESIS TEST FOR MEANS** -----

**DIFFERENCE BETWEEN TWO GROUP MEANS : POOLED ESTIMATE VARIANCE**

		<b>GROUP 1</b>	<b>GROUP 2</b>
MEAN		17.7000	17.8800
STD. DEV		0.0572	0.0600
N	=	10	10
<b>DIFFERENCE</b>	=		-0.1800
<b>STD. ERROR OF DIFFERENCE</b>	=		0.0262
T	=	-6.8691	( D.F. = 18 )
		<b>GROUP 1</b>	<b>KAMBING KACANG</b>
		<b>GROUP 2</b>	<b>KAMBING PE</b>
PROB	=	9.9911E-07*	
s		berbeda nyata (P<0.05)	

**KAMBING UMUR SEDANG**

----- Kolmogorov – Smirnov Goodness of Fit Test -----

Test distribution – Normal	Mean	17.6845		
	Standard Deviation		0.0729	
Cases	20			
Most extreme differences				
Absolute	Positive	Negative	K-S Z	2-Tailed P
0.11991	0.11991	-0.08381	0.5363	0.9359

**Levene's Test for Equality of Variances**

F	P
0.025	0.877

**-----HYPOTHESIS TEST FOR MEANS-----**  
**DIFFERENCE BETWEEN TWO GROUP MEANS : POOLED ESTIMATE VARIANCE**

		GROUP 1	GROUP 2
MEAN	=	17.6370	17.7320
STD DEV	=	0.0544	0.0569
N	=	10	10

DIFFERENCE = -0.0950  
 STD ERROR OF DIFFERENCE = 0.0249

T = -3.8163 (DF = 18) GROUP 1 KAMBING KACANG  
 GROUP 2 KAMBING PE

PROB = 6.323E-04  
 s berbeda nyata ( $P < 0.05$ )

**KAMBING UMUR TUA**

**-----Kolmogorov - Smirnov Goodness of Fit Test-----**

Test distribution	Normal	Mean	17.6030	
		Standard Deviation	.00897	
Cases	20			
Most extreme differences				
Absolute	Positive	Negative	K-S Z	2-Tailed P
0.13666	0.08169	-0.13666	0.6113	0.8492

**Levene's Test for Equality of Variances**

F = 0.121  
 P = 0.732

**-----HYPOTHESIS TEST FOR MEANS-----**  
**DIFFERENCE BETWEEN TWO GROUP MEANS : POOLED ESTIMATE VARIANCE**

		GROUP 1	GROUP 2
MEAN	=	17.5370	17.6690
STD DEV	=	0.0640	0.0567
N	=	10	10

DIFFERENCE = -0.1320  
 STD ERROR OF DIFFERENCE = 0.0270

T = -4.8855 (DF = 18) GROUP 1 KAMBING KACANG  
 GROUP 2 KAMBING PE

PROB = 5.951E-05  
 s berbeda nyata ( $P < 0.05$ )

**Lampiran 19. Perbedaan aktivitas katalase spesifik dari semen kambing umur muda, sedang dan tua (Unit/mg protein).**

Ulangan	Kambing Kacang			Kambing PE		
	Muda (K-1)	Sedang (K-2)	Tua (K-3)	Muda (P-1)	Sedang (P-2)	Tua (P-3)
1	27.59	27.50	22.61	28.44	28.14	22.98
2	27.70	27.46	22.57	28.34	28.14	22.89
3	27.70	27.55	22.54	28.39	27.98	22.94
4	27.55	27.41	22.42	28.49	27.94	22.85
5	27.55	27.36	22.57	28.58	28.10	22.85
6	27.59	27.41	22.50	28.58	28.19	22.81
7	27.50	27.61	22.46	28.63	28.05	22.77
8	27.50	27.46	22.38	28.39	28.05	22.94
9	27.55	27.55	22.50	28.55	27.94	22.77
10	27.66	27.36	22.38	28.49	27.94	22.81
<b>Rata-Rata</b>	27.61	27.47	22.49	28.49	28.05	22.86
<b>SD</b>	0.09	0.08	0.08	0.10	0.09	0.07

**KAMBING KACANG**

**Kolmogorov - Smirnov Goodness of Fit Test**

Test distribution - Normal

Mean 25.8563  
Standart Deviation 2.4210

Cases 30

Most extreme differences

Absolute	Positive	Negative	K-S Z	2-Tailed P
0.39940	0.24336	-0.39940	2.1876	0.0001

**Levene Test for Homogeneity of Variances**

Statistic	df 1	df 2	2-tail Sig.
0.1077	2	27	0.898

**KRUSKAL-WALLIS ONE-WAY ANOVA**

Mean Rank	Cases	
24.20	10	Umur = Muda
16.80	10	Umur = Sedang
5.50	10	Umur = Tua
	30	Total

Chi-Square	D F	Significance	Chi-Square	D F	Significance
22.8877	2	0.0000	23.0003	2	0.0000

Mean Rank	Cases	
14.20	10	Umur = Muda
6.80	10	Umur = Sedang
	20	Total

Chi-Square	D F	Significance	Chi-Square	D F	Significance
7.8229	1	0.0052	7.9362	1	0.0048

Mean Rank	Cases	
15.50	10	Umur = Sedang
5.50	10	Umur = Tua
	20	Total

Chi-Square	D.F.	Significance	Chi-Square	D.F.	Significance
14.2857	1	0.0002	14.3623	1	0.0002

**KAMBING PERANAKAN ETAWAH**

**Kolmogorov – Smirnov Goodness of Fit Test**

Test distribution - Normal			Mean	Standart Deviation
			26.4667	2.6009
Cases: 30				
Most extreme differences				
Absolute	Positive	Negative	K-S Z	2-Tailed P
0.38113	0.24330	-0.38113	2.0875	0.0003

**Levene Test for Homogeneity of Variances**

Statistic	df1	df2	2-tail Sig
0.3917	2	27	0.680

**KRUSKAL-WALLIS ONE-WAY ANOVA**

Mean Rank	Cases	
25.50	10	Umur = Muda
15.50	10	Umur = Sedang
5.50	10	Umur = Tua
	30	Total

Chi-Square	D.F.	Significance	Chi-Square	D.F.	Significance
25.8065	2	0.0000	25.8698	2	0.0000

Mean Rank	Cases	
15.50	10	Umur = Muda
5.50	10	Umur = Sedang
	20	Total

Chi-Square	D.F.	Significance	Chi-Square	D.F.	Significance
14.2857	1	0.0002	14.3613	1	0.0002

Mean Rank	Cases	
15.50	10	Umur = Sedang
5.50	10	Umur = Tua
	20	Total

Chi-Square	D.F.	Significance	Chi-Square	D.F.	Significance
14.2857	1	0.0002	14.3722	1	0.0002

**Lampiran 20. Perbedaan aktivitas katalase spesifik dari semen kambing kacang dan kambing peranakan etawah (Unit/mg protein).**

**KAMBING UMUR MUDA**

----- Kolmogorov – Smirnov Goodness of Fit Test -----

Test distribution	Normal	Mean	.28.0485	
		Standart Deviation		0.4599

Cases: 20

Most extreme differences				
Absolute	Positive	Negative	K-S Z	2-Tailed P
0.24186	0.24186	-0.23692	1.0816	0.1925

**Levene's Test for Equality of Variances**

	F	P
	0.031	0.862

---

**HYPOTHESIS TEST FOR MEANS**

**DIFFERENCE BETWEEN TWO GROUP MEANS : POOLED ESTIMATE VARIANCE**

		GROUP 1	GROUP 2
MEAN	=	27.6090	28.4880
STD DEV	=	0.088	0.097
N	=	10	10

DIFFERENCE:	=	-0.879
STD ERROR OF DIFFERENCE:	=	0.041

T = -21.19 (D.F. = 18)      GROUP 1      KAMBING KACANG  
 GROUP 2      KAMBING PE

PROB = 0.0000\*  
 s berbeda nyata (P<0.05)

**KAMBING UMUR SEDANG**

----- Kolmogorov – Smirnov Goodness of Fit Test -----

Test distribution	Normal	Mean	27.7590	
		Standart Deviation		.03114

Cases: 20

Most extreme differences				
Absolute	Positive	Negative	K-S Z	2-Tailed P
0.21947	0.19894	-0.21947	0.9815	0.2904

**Levene's Test for Equality of Variances**

	F	P
	0.056	0.815

-----**HYPOTHESIS TEST FOR MEANS**-----  
**DIFFERENCE BETWEEN TWO GROUP MEANS : POOLED ESTIMATE VARIANCE**

		GROUP 1	GROUP 2
MEAN	.	27.4670	28.0510
STD DEV	.	0.085	0.090
N	.	10	10
DIFFERENCE		= -0.584	
STD ERROR OF DIFFERENCE		0.039	
T	-14.96 (D.F. = 18)	GROUP 1 GROUP 2	KAMBING KACANG KAMBING PE
PROB	= 0.0000*		

s. berbeda nyata ( $P < 0.05$ )

**KAMBING UMUR TUA**  
 Kolmogorov - Smirnov Goodness of Fit Test

---

Test distribution	Normal	Mean	22.6770	
		Standard Deviation	0.2034	
Cases	20			
Most extreme differences				
Absolute	0.17621	Positive	0.15053	Negative
				-0.17621
		K-S Z	0.7880	2-Tailed P
				0.5637
<b>Levene's Test for Equality of Variances</b>				
		F	0.088	p
				0.771

-----**HYPOTHESIS TEST FOR MEANS**-----  
**DIFFERENCE BETWEEN TWO GROUP MEANS : POOLED ESTIMATE VARIANCE**

		GROUP 1	GROUP 2
MEAN	-	22.4930	22.8610
STD DEV	-	0.0815	0.0742
N	.	10	10
DIFFERENCE		= -0.368	
STD ERROR OF DIFFERENCE		0.035	
T	-10.56 (D.F. = 18)	GROUP 1 GROUP 2	KAMBING KACANG KAMBING PE
PROB	= 0.0000*		

s. berbeda nyata ( $P < 0.05$ )

**Lampiran 2). Pengaruh aktivitas SOD terhadap integritas membran spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah.**

**Kambing Kacang**

INDEX	NAME	MEAN	STD. DEV.
I	SOD	8.0933	0.7884
DEP. VAR	INT.MEMB.S	86.1303	1.8860

-----REGRESSION ANALYSIS-----

VAR.	REGRESSION COEFFICIENT	STD. ERROR	T (DF = 28)	PROB
SOD	2.2976	0.1259	18.253	0.00000 *
CONSTANT	67.5348			

s : berpengaruh nyata (P<0.05)

STD. ERROR OF EST. = 0.5344  
r SQUARE = 0.9225  
r = 0.9605

**ANALYSIS OF VARIANCE TABLE**

SOURCE	SUM OF SQUARES	D.F.	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB
REGRESSION	95.1596	1	95.1596	333.155	0.000E+00 *
RESIDUAL	7.9977	28	0.2856		
TOTAL	103.1573	29			

s : berpengaruh nyata (P<0.05)

**Kambing Peranakan Etawah**

INDEX	NAME	MEAN	STD. DEV.
I	SOD	7.0497	0.5169
DEP. VAR	INT.MEMB.S	87.2677	1.3460

-----REGRESSION ANALYSIS-----

VAR.	REGRESSION COEFFICIENT	STD. ERROR	T (DF = 28)	PROB
SOD	2.3593	0.2083	11.324	0.00000 *
CONSTANT	70.6357			

s : berpengaruh nyata (P<0.05)

STD. ERROR OF EST. = 0.5799  
r SQUARE = 0.8208  
r = 0.9060

**ANALYSIS OF VARIANCE TABLE**

SOURCE	SUM OF SQUARES	D.F.	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB
REGRESSION	43.1243	1	43.1243	128.236	5.7301E-12 *
RESIDUAL	9.4161	28	0.3363		
TOTAL	52.5403	29			

s : berpengaruh nyata (P<0.05)

**Lampiran 22. Pengaruh aktivitas katalase terhadap integritas membran spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah.**

**Kambing Kacang**

INDEX	NAME	MEAN	STD. DEV.
1	KATALASE	17.6247	0.0887
DEP. VAR	INT.MEMB.S	86.1303	1.8860

**REGRESSION ANALYSIS**

VAR.	REGRESSION COEFFICIENT	STD. ERROR	T (DF = 28)	PROB
KATALASE	19.5008	1.6065	12.138	0.00000 <sup>*</sup>
CONSTANT	-257.5656			

s : berpengaruh nyata (P<0.05)

STD. ERROR OF EST. = 0.7670  
r SQUARE = 0.8403  
r = 0.9167

**ANALYSIS OF VARIANCE TABLE**

SOURCE	SUM OF SQUARES	D.F.	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB
REGRESSION	86.6843	1	86.6843	147.341	1.180E-12 <sup>*</sup>
RESIDUAL	16.4730	28	0.5883		
TOTAL	103.1573	29			

s : berpengaruh nyata (P<0.05)

**Kambing Peranakan Etawah**

INDEX	NAME	MEAN	STD. DEV.
1	KATALASE	17.7603	0.1059
DEP. VAR	INT.MEMB.S	87.2677	1.3460

**REGRESSION ANALYSIS**

VAR.	REGRESSION COEFFICIENT	STD. ERROR	T (DF = 28)	PROB
KATALASE	11.1555	1.1522	9.682	0.00000 <sup>*</sup>
CONSTANT	-110.8581			

s : berpengaruh nyata (P<0.05)

STD. ERROR OF EST. = 0.6569  
r SQUARE = 0.7700  
r = 0.8775

**ANALYSIS OF VARIANCE TABLE**

SOURCE	SUM OF SQUARES	D.F.	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB
REGRESSION	40.4569	1	40.4569	93.747	1.954E-10 <sup>*</sup>
RESIDUAL	12.0835	28	0.4316		
TOTAL	52.5403	29			

s : berpengaruh nyata (P<0.05)



**Lampiran 23. Pengaruh integritas membran terhadap motilitas spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah.**

**Kambing Kacang**

INDEX	NAME	MEAN	STD. DEV.
1	INT.MEMB.S	86.1303	1.8860
DEP. VAR	MOTILITAS	91.0603	1.1051

-----REGRESSION ANALYSIS-----

VAR.	REGRESSION COEFFICIENT	STD. ERROR	T (DF = 28)	PROB
INT.MEMB.S	0.5545	0.0358	15.494	0.00000*
CONSTANT	43.3017			

s . berpengaruh nyata (P<0.05)

STD. ERROR OF EST.	0.3635
r SQUARE	0.8955
r	0.9463

**ANALYSIS OF VARIANCE TABLE**

SOURCE	SUM OF SQUARES	D.F	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB
REGRESSION	31.7170	1	31.7170	240.066	0.000E+00*
RESIDUAL	3.6993	28	0.1321		
TOTAL	35.4163	29			

s . berpengaruh nyata (P<0.05)

**Kambing Peranakan Etawah**

INDEX	NAME	MEAN	STD. DEV.
1	INT.MEMB.S	87.2677	1.3460
DEP. VAR	MOTILITAS	91.4183	0.9835

-----REGRESSION ANALYSIS-----

VAR.	REGRESSION COEFFICIENT	STD. ERROR	T (DF = 28)	PROB
INT.MEMB.S	0.6964	0.0418	16.654	0.00000*
CONSTANT	30.6476			

s . berpengaruh nyata (P<0.05)

STD. ERROR OF EST	= 0.3031
r SQUARE	0.9083
r	0.9531

**ANALYSIS OF VARIANCE TABLE**

SOURCE	SUM OF SQUARES	D.F	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB
REGRESSION	25.4785	1	25.4785	277.364	0.000E+00*
RESIDUAL	2.5721	28	0.0919		
TOTAL	28.0506	29			

s . berpengaruh nyata (P<0.05)

Spesifikasinya yaitu: perubahan terhadap persentase hidun kambing peranakan etawah.

### Kambing Kacang

INDEX	NAME	MEAN	STD. DEV.
1	INT.MEMB.S	86.1303	1.8860
DEP. VAR	SPERMA HIDUP	92.5867	1.3945

### REGRESSION ANALYSIS

VAR.	REGRESSION COEFFICIENT	STD. ERROR	T (DF = 28)	PROB
INT.MEMB.S	0.5980	0.0822	7.277	0.00000 <sup>*</sup>
CONSTANT	41.0816			

s : berpengaruh nyata (P<0.05)

STD. ERROR OF EST.	- 0.8346
r SQUARE	0.6541
r	0.8088

### ANALYSIS OF VARIANCE TABLE

SOURCE	SUM OF SQUARES	DF	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB
REGRESSION	36.8882	1	36.8882	52.953	6.372E-08 <sup>*</sup>
RESIDUAL	19.5054	28	0.6966		
TOTAL	56.3937	29			

s : berpengaruh nyata (P<0.05)

### Kambing Peranakan Etawah

INDEX	NAME	MEAN	STD. DEV.
1	INT.MEMB.S	87.2677	1.3460
DEP. VAR	SPERMA HIDUP	92.8570	1.2343

### REGRESSION ANALYSIS

VAR.	REGRESSION COEFFICIENT	STD. ERROR	T (DF = 28)	PROB
INT.MEMB.S	0.8539	0.0632	13.512	0.00000 <sup>*</sup>
CONSTANT	18.3415			

s : berpengaruh nyata (P<0.05)

STD. ERROR OF EST.	0.4581
r SQUARE	- 0.8670
r	- 0.9311

### ANALYSIS OF VARIANCE TABLE

SOURCE	SUM OF SQUARES	DF	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB
REGRESSION	38.3071	1	38.3071	182.567	0.000E-14 <sup>*</sup>
RESIDUAL	5.8751	28	0.2098		
TOTAL	44.1822	29			

s : berpengaruh nyata (P<0.05)

**Lampiran 25. Pengaruh integritas membran terhadap abnormalitas spermatozoa pada masa reproduksi kambing kacang dan kambing peranakan etawah.**

**Kambing Kacang**

INDEX	NAME	MEAN	STD. DEV.
1	INT.MEMB.S	86.1303	1.8860
DEP. VAR	ABNORMAL.	2.4023	1.1100

**REGRESSION ANALYSIS**

VAR.	REGRESSION COEFFICIENT	STD. ERROR	T (DF = 28)	PROB
INT.MEMB.S	-0.3896	0.0834	-4.674	0.00007 *
CONSTANT	35.9623			

s : berpengaruh nyata ( $P < 0.05$ )

STD. ERROR OF EST.	-	0.8467
r SQUARE	-	0.4383
r	=	-0.6620

**ANALYSIS OF VARIANCE TABLE**

SOURCE	SUM OF SQUARES	D.F.	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB
REGRESSION	15.6614	1	15.6614	21.847	6.759E-05 *
RESIDUAL	20.0723	28	0.7169		
TOTAL	35.7337	29			

s : berpengaruh nyata ( $P < 0.05$ )

**Kambing Peranakan Etawah**

INDEX	NAME	MEAN	STD. DEV.
1	INT.MEMB.S	87.2677	1.3460
DEP. VAR	ABNORMAL	2.4477	1.0262

**REGRESSION ANALYSIS**

VAR.	REGRESSION COEFFICIENT	STD. ERROR	T (DF = 28)	PROB
INT.MEMB.S	-0.6975	0.0582	-11.990	0.00000 *
CONSTANT	63.3183			

s : berpengaruh nyata ( $P < 0.05$ )

STD. ERROR OF EST.	-	0.4217
r SQUARE	=	0.8370
r	=	-0.9149

**ANALYSIS OF VARIANCE TABLE**

SOURCE	SUM OF SQUARES	D.F.	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB
REGRESSION	25.5624	1	25.5624	143.762	1.560E-12 *
RESIDUAL	4.9787	28	0.1778		
TOTAL	30.5411	29			

s : berpengaruh nyata ( $P < 0.05$ )