



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

**PENGARUH PENAMBAHAN BEBERAPA LEVEL GLISEROL PADA
BAHAN PENGECER ANDROMED TERHADAP KUALITAS SEMEN
KERBAU DI BIB TUAH SAKATO PAYAKUMBUH**

SKRIPSI



**OSHINA PUTRI
0810612076**

**JURUSAN PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG 2012**

FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG

Kami dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang ditulis oleh

OSHINA PUTRI

**PENGARUH PENAMBAHAN BEBERAPA LEVEL GLISEROL PADA
BAHAN PENGECER ANDROMED TERHADAP KUALITAS SEMEN
KERBAU DI BIB TUAH SAKATO PAYAKUMBUH**

diterima sebagai salah syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Peternakan

Menyetujui,

Pembimbing I

Prof. Dr. Ir. Zaituni Udin, M.Sc
NIP. 195309071980032001

Pembimbing II

Dr. Ir. H. Hendri Dt. T.NH, MS
NIP. 196207291988101001

Tim penguji

Nama

Tanda Tangan

Ketua

Prof. Dr. Ir. Zaituni Udin, M.Sc

1.....

Sekretaris

Ir. Syofyan Nawaan, MP

2.....

Anggota

Dr. Ir. H. Hendri Dt. T.NH, MS

3.....

Anggota

Prof. Dr. Ir. H. Suardi MS, MS

4.....

Anggota

Prof. Dr. Ir. Ferdinal Rahim

5.....

Anggota

Dr. Ir. H. Jaswandi, MS

6.....

Mengetahui,

Dekan Fakultas Peternakan
Universitas Andalas

Dr. Ir. Jafrinur, MSP
NIP. 196002151986031005

Ketua Program Studi Peternakan

Dr. Rusfidra, S.Pt. MP
NIP. 132231457000000000

Tanggal lulus : Rabu, 03 Oktober 2012

**PENGARUH PENAMBAHAN BEBERAPA LEVEL GLISEROL PADA
BAHAN PENGECER ANDROMED TERHADAP KUALITAS SEMEN
KERBAU DI BIB TUAH SAKATO PAYAKUMBUH**

Oshina Putri, dibawah bimbingan
Prof. Dr. Ir. Zaituni Udin, M.Sc dan Dr. Ir. H. Hendri Dt. T. N. H., MS
Program Studi Peternakan
Fakultas Peternakan Universitas Andalas
Padang 2012

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan beberapa level gliserol pada bahan pengencer andromed terhadap motilitas, persentase hidup, abnormalitas dan Membran Plasma Utuh (MPU) semen Kerbau di Balai Inseminasi Tuah Sakato Payakumbuh. Penampungan semen menggunakan metode vagina buatan. Penelitian ini dilakukan secara eksperimen Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan empat kali perlakuan (penambahan gliserol 0%, 6%, 7, dan 8%) dan enam kali penampungan semen sebagai ulangan (kelompok). Semen segar dievaluasi secara makroskopis dan mikroskopis di laboratorium. Peubah yang diamati adalah motilitas, persentase hidup, abnormalitas dan membran plasma utuh (MPU). Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan gliserol pada pengencer andromed memberikan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0.01$) terhadap motilitas, persentase hidup, abnormalitas dan MPU semen kerbau. Dapat disimpulkan bahwa penambahan gliserol 0% pada pengencer andromed merupakan perlakuan terbaik terhadap semen kerbau, dengan nilai motilitas terbaik 67.00%, persentase hidup terbaik 70.51%, abnormalitas terbaik pada perlakuan 26.02% dan MPU 72.05%.

Kata Kunci : *gliserol*, motilitas, persentase hidup, abnormalitas, membran plasma utuh (MPU)

UNTUK KEDJAJAAN BANGSA

KATA PENGANTAR



Puji Syukur kehadiran Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya penulis haturkan karena telah dapat menyusun skripsi dengan judul **“Pengaruh Penambahan Beberapa Level Gliserol Pada Bahan Pengencer Andromed Terhadap Kualitas Semen Kerbau”**.

Skripsi ini dibuat sebagai salah satu syarat dalam menyelesaikan studi tingkat sarjana pada Fakultas Peternakan Univeritas Andalas Padang.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibuk Prof. Dr. Ir. Zaituni Udin, MSc selaku Pembimbing I dan Bapak Dr. Ir. H. Hendri Dt. Tumanggung N. H., MS selaku pembimbing II yang telah memberikan banyak bimbingan dan pengarahan dalam penelitian dan penulisan skripsi ini.
2. Bapak Dekan Fakultas Peternakan, Bapak ketua Jurusan dan Sekretaris Jurusan Produksi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Andalas.
3. Bapak dan Ibuk staf pengajar beserta karyawan Fakultas Peternakan Universitas Andalas.
4. Bapak Kepala Laboratorium Balai Inseminasi Buatan (BIB) Tuah Sakato Payakumbuh beserta karyawan yang telah membantu menyediakan bahan penelitian.
5. Teman-teman mahasiswa angkatan 2008 khususnya paralel 02 program studi Peternakan.

Terakhir penulis mengucapkan Terima Kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini. Kritikan dan saran sangat penulis harapkan untuk kesempurnaan dimasa akan datang.

Padang, November 2012

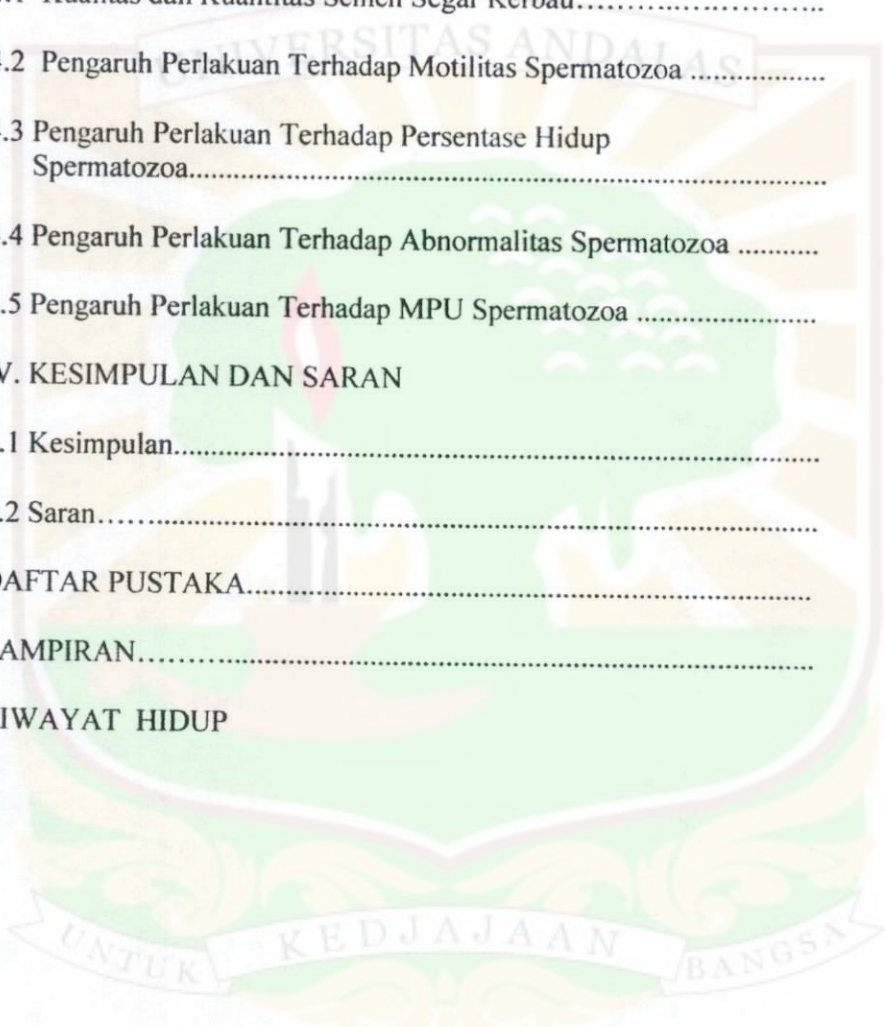


Penulis

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|---|---------|
| ABSTRAK..... | i |
| KATA PENGANTAR..... | ii |
| DAFTAR ISI..... | iv |
| DAFTAR TABEL..... | vi |
| DAFTAR LAMPIRAN..... | vii |
| I. PENDAHULUAN | |
| 1.1 Latar Belakang..... | 1 |
| 1.2 Perumusan Masalah..... | 3 |
| 1.3 Tujuan Penelitian | 3 |
| 1.4 Manfaat Penelitian..... | 3 |
| 1.5 Hipotesis Penelitian..... | 3 |
| II. TINJAUAN PUSTAKA | |
| 2.1 Reproduksi Ternak Kerbau..... | 4 |
| 2.2 Penampungan Semen..... | 5 |
| 2.2.1 Kualitas Semen..... | 6 |
| 2.2.2 Komposisi Semen..... | 10 |
| 2.3 Morfologi Spermatozoa..... | 10 |
| 2.4 Pengenceran Semen..... | 10 |
| 2.5 Daya Tahan Hidup Spermatozoa Sebelum dan Setelah Pengenceran | 11 |
| 2.5 Andromed..... | 12 |
| 2.6 Penambahan Gliserol dalam Pengencer..... | 13 |

| | |
|---|----|
| III. MATERI DAN METODA PENELITIAN | |
| 3.1 Materi Penelitian..... | 14 |
| 3.2 Metoda Penelitian..... | 14 |
| 3.3 Tempat dan Waktu Penelitian..... | 20 |
| IV. HASIL DAN PEMBAHASAN | |
| 4.1 Kualitas dan Kuantitas Semen Segar Kerbau..... | 21 |
| 4.2 Pengaruh Perlakuan Terhadap Motilitas Spermatozoa..... | 26 |
| 4.3 Pengaruh Perlakuan Terhadap Persentase Hidup Spermatozoa..... | 27 |
| 4.4 Pengaruh Perlakuan Terhadap Abnormalitas Spermatozoa..... | 29 |
| 4.5 Pengaruh Perlakuan Terhadap MPU Spermatozoa..... | 30 |
| V. KESIMPULAN DAN SARAN | |
| 5.1 Kesimpulan..... | 32 |
| 5.2 Saran..... | 32 |
| DAFTAR PUSTAKA..... | 33 |
| LAMPIRAN..... | 35 |
| RIWAYAT HIDUP | |



DAFTAR TABEL

| Tabel | Teks | Halaman |
|-------|---|---------|
| 1. | Hasil Evaluasi Semen dari Seekor Kerbau Pejantan..... | 21 |
| 2. | Rataan Motilitas Spermatozoa Untuk Tiap Perlakuan..... | 26 |
| 3. | Rataan Persentase Hidup Spermatozoa Untuk Tiap Perlakuan... | 27 |
| 4. | Rataan Abnormalitas Spermatozoa Tiap Perlakuan..... | 29 |
| 5. | Rataan MPU Spermatozoa Untuk Tiap Perlakuan..... | 30 |



DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran | Teks | Halaman |
|----------|--|---------|
| 1. | Analisis Statistik Pengaruh Perlakuan Terhadap Motilitas Spermatozoa..... | 35 |
| 2. | Analisis Statistik Pengaruh Perlakuan Terhadap Persentase Hidup Spermatozoa..... | 38 |
| 3. | Analisis Statistik Pengaruh Perlakuan Terhadap Abnormalitas Spermatozoa..... | 42 |
| 4. | Analisis Statistik Pengaruh Perlakuan Terhadap MPU Spermatozoa..... | 45 |



I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ternak kerbau merupakan salah satu ternak yang harus dikembangkan, selain berfungsi sebagai sumber protein hewani seperti: susu, dan daging. Kulit, tulang, tanduk, dan feses juga hasil yang diharapkan dari ternak ini. Di Indonesia ternak kerbau telah lama di kembangkan oleh kalangan petani didaerah pedesaan sebagai tenaga kerja untuk pengolahan sawah dan transportasi hasil pertanian.

Kurang tersedianya kerbau pejantan di masyarakat disebabkan peternak kurang mau memelihara pejantan, karena sulitnya pengendalian pejantan. Untuk mengatasi hal ini maka dapat dilakukan penyediaan semen dari pejantan unggul.

Usaha untuk mempertahankan kualitas semen dan memperbanyak hasil sebuah ejakulasi dari pejantan unggul adalah dengan melakukan pengenceran semen menggunakan bahan pengencer. Bahan pengencer harus dapat menyediakan nutrisi bagi kebutuhan spermatozoa selama penyimpanan, harus memungkinkan spermatozoa dapat bergerak secara progresif, tidak bersifat racun bagi spermatozoa, menjadi penyanggah bagi spermatozoa, dan dapat melindungi spermatozoa dari kejutan dingin (*cold shock*). Upaya untuk mengurangi kerusakan spermatozoa karena pengaruh kejutan dingin (*cold shock*) adalah dengan penambahan gliserol dalam bahan pengencer.

Gliserol adalah suatu zat yang dapat berdifusi ke dalam sel-sel spermatozoa dan dapat dimetaboliser dalam proses-proses yang menghasilkan energi untuk membentuk fruktosa. Penambahan gliserol ke dalam pengencer adalah esensial untuk pembekuan, karena gliserol dapat masuk kedalam sel

spermatozoa untuk mengikat sebagian air bebas, sehingga kristal-kristal es yang terbentuk didalam pengenceran pada waktu pembekuan dapat dicegah (Azizah dan Arifiantini, 2009).

Selain gliserol, andromed juga media pengencer yang telah banyak dipakai untuk pengenceran semen kerbau. Andromed merupakan bahan pengencer komersial yang bebas protein hewani, sehingga dapat menghindari kemungkinan penularan penyakit melalui bahan pengencer dari produk asal hewan. Pada BIB Tuah Sakato Payakumbuh andromed digunakan sebagai bahan pengencer semen beku dan pengencer semen komersial yang mana pada andromed tersebut tidak diketahui jumlah gliserol yang terkandung didalamnya. Untuk itu dalam penelitian ini penulis tertarik melakukan penelitian apakah sudah terdapat gliserol dengan standar pengencer yang sesuai untuk semen beku. Andromed sebenarnya lebih diperuntukkan sebagai media pengencer bagi semen beku sapi. Namun demikian, dalam penelitian ini diketahui bahwa andromed ternyata dapat mempertahankan kualitas semen beku kerbau sehingga masih layak serta memenuhi kriteria untuk tujuan IB.

1.2 Perumusan Masalah

Sejauh mana pengaruh level gliserol yang dicampur pada pengencer Andromed terhadap kualitas semen segar kerbau meliputi: motilitas spermatozoa, persentase hidup spermatozoa, abnormalitas spermatozoa dan Membran Plasma Utuh (MPU).

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui penambahan level gliserol yang paling baik pada pengencer andromed semen segar kerbau terhadap motilitas spermatozoa, persentase hidup, abnormalitas dan Membran Plasma Utuh (MPU).

1.4 Manfaat Penelitian

1. Dari hasil penelitian diharapkan dapat berguna dan dapat dijadikan pedoman bagi Balai Inseminasi Buatan dalam memilih aditif alami bagi pengencer semen dalam keperluan Inseminasi Buatan.
2. Dapat memberikan sumbangan ilmu pengetahuan terutama dalam bidang ilmu reproduksi pada ternak kerbau.

1.5 Hipotesis penelitian

Adanya pengaruh penambahan level gliserol pada pengencer Andromed terhadap Motilitas Spermatozoa, Persentase Hidup, Abnormalitas dan Membran Plasma Utuh (MPU) pada semen Kerbau.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Reproduksi Ternak Kerbau

Kerbau termasuk kedalam family *Bovidae* genus *Bubalis*. Menurut Hardjosubroto dan Astuti (1993), populasi kerbau yang ada diseluruh dunia saat ini berasal dari daerah sekitar India yang merupakan hasil domestikasi dari kerbau liar (*Bubalus Arnicee*). Beberapa tipe kerbau liar masih banyak ditemukan antara lain Anoa (*Bubalus depreesicornis*) yang terdapat di Sulawesi, kerbau Mindoro (*Bubalus mindoroensis*) yang terdapat di Filipina, *Bubalus caffer* yang terdapat di Afrika Timur dan Barat Daya dan kerbau Murrah di daerah Tsad, Niger, Maroko selatan dan Kongo. Kerbau domestik secara umum dikelompokkan menjadi kerbau rawa (*Swamp buffalo*) dan kerbau sungai (*River buffalo*).

Kerbau adalah hewan yang biasa hidup dengan makanan sederhana, cenderung hidup pada daerah yang banyak air, rawa, dewasa nya kerbau pada umur 5-6 tahun dengan ciri-ciri kumis yang agak panjang, kuping yang besar, tanduk yang subur pertumbuhannya, rambut yang jarang, kaki pendek dengan sepatu kuku yang besar serta jari-jari belakang yang subur tumbuhnya (Sosroamidjojo, 1975). Di jelaskan oleh Rivai (1994) bahwa sifat kerbau dibandingkan dengan ternak lainnya adalah mampu bekerja berat dipanas terik, tempat yang berpayau, lingkungan yang basah, dan kemampuan untuk dapat bertahan dari hijauan kasar yang sangat rendah gizinya. Dibandingkan dengan sapi, kerbau mempunyai sifat-sifat reproduksi masak lambat, periode kebuntingan lama sehingga umur beranak pertama lama, serta lamanya siklus berahi bervariasi dengan tanda-tanda yang kurang jelas (Saladin, dkk. 1978).

Alat-alat reproduksi ternak kerbau mirip dengan alat-alat reproduksi ternak-ternak yang termasuk golongan mamalia (Saladin, 1978), yang dikuatkan oleh Toelihere (1981) menyatakan bahwa anatomi organ kelamin pada kerbau sama dengan anatomi organ kelamin sapi. Di jelaskan lagi bahwa kerbau jantan mencapai pubertas atau dewasa kelamin pada umur yang lebih tua dari sapi. Dan ditambahkan oleh Salisbury dan Van Demark (1985) pengaruh umur terhadap fertilitas ternak jantan dan betina sulit untuk diketahui karena faktor penyebabnya sangat kompleks dan banyak seperti: lingkungan, tata laksana, dan pakan.

2.2 Penampungan Semen.

Semen adalah sekresi kelamin jantan yang secara normal diejakulasi kedalam saluran kelamin betina sewaktu kopulasi, tetapi dapat pula ditampung dengan berbagai cara untuk keperluan IB (Toelihere, 1985). Menurut Taurin *et al.*, (2000) menampung semen dengan vagina buatan adalah yang terpraktis, dengan vagina buatan satu ejakulasi normal dari pejantan dapat segera diperoleh dengan mudah dan kontaminasi dapat diminimalisasi sedikit mungkin. Toelihere (1993) menyatakan bahwa penampungan semen memakai vagina buatan, libido justru diusahakan dipertinggi untuk memperoleh semen berkuantitas dan berkualitas tinggi. Untuk itu sebelum penampungan biasanya dilakukan dengan tidak menampung semen pada penampungan pertama atau kedua, disebut *false mount*. Hale dan Almquist pada tahun 1960 yang dikutip oleh Toelihere (1993) menyatakan suatu *false mount* menyebabkan peninggian konsentrasi sperma 50 persen dan dua kali lipat konsentrasi spermatozoa yang diperoleh tanpa pengekanan.

Penampungan semen empat kali atau lebih perminggu, jika dilakukan terus menerus akan mempengaruhi kuantitas dan kualitas semen. Yang baik adalah penampungan dilakukan satu sampai dua kali seminggu. Dengan penampungan dua kali seminggu kuantitas dan kualitas semen dari minggu ke minggu akan tetap baik dan kondisi ternak dapat terjaga, asal makanan dan perawatannya baik (Partodihardjo, 1992).

2.2.1 Kualitas Semen

Menurut Toelihare (1981), semen adalah ejakulasi yang terdiri dari spermatozoa yang dihasilkan oleh testes dan tercampur dalam plasma semen, berupa cairan yang dihasilkan oleh testes dan kelenjer aksesoris lainnya. Kriteria mengenai penilaian semen bertujuan untuk mencoba mendapatkan suatu cara pendugaan tidak langsung mengenai potensi semen untuk memperlihatkan fungsi fertilitasnya (Salisbury dan VanDemark, 1985). Penentuan kualitas semen dan kuantitas spermatozoa dapat diamati melalui pemeriksaan secara makroskopik dan mikroskopik. Pemeriksaan makroskopik meliputi volume, warna, konsistensi, dan bau. Dan pemeriksaan secara mikroskopik meliputi gerakan massa, gerakan individu, konsentrasi, pewarnaan diferensial morfologi spermatozoa hidup atau mati, normal atau abnormal dan aktifitas metabolis spermatozoa (Toelihare, 1981). Menurut Seit (1954) secara makroskopik semen yang berwarna krem sampai putih dengan konsistensi yang kental mempunyai konsentrasi yang tinggi yaitu 900-2000 juta per cc. Partodiharjo (1987) menyatakan jika warna semen krem keputihan, maka konsistensi semen adalah kental dengan jumlah sperma kira-kira 1000 juta per ml, warna lebih jernih dari susu kira-kira mengandung 500 juta per ml, jika warna dan konsistensi sama dengan air buah kelapa diperkirakan

mengandung kurang dari 100 juta sel spermatozoa per ml. Metabolisme sperma dalam keadaan anaerob menghasilkan asam laktat yang banyak dan mengakibatkan derajat keasaman menjadi tinggi atau menurunkan pH larutan tersebut. Derajat keasaman sangat mempengaruhi daya tahan hidup spermatozoa (Toelihere, 1985). Pada umumnya sperma sangat aktif dan tahan hidup lama pada pH sekitar 7 (Toelihere, 1985).

Motilitas Spermatozoa. Menurut Toelihere, (1981) motilitas akan dapat ditentukan melalui gerakan massa atau gerakan individu. Untuk gerakan massa ditentukan dengan penilaian sebagai berikut:

- (1) sangat baik (+++), terlihat gelombang besar, gelap, tebal, dan aktif bagaikan gumpalan awan hitam pekat waktu hujan, bergerak cepat dan berpindah-pindah.
- (2) baik (++), terlihat gelombang tipis kecil, jarang, kurang jelas, dan berkembang lamban.
- (3) cukup (+), tidak terlihat gelombang melainkan hanya gerakan-gerakan individual aktif progresif.
- (4) jelek (0), bila hanya sedikit atau tidak ada gerakan individual.

Berdasarkan gerakan individual, dilakukan penilaian sebagai berikut:

- a. Spermatozoa imotil atau tidak bergerak.
- b. Gerakan berputar ditempat.
- c. Gerakan berayun atau melingkar, kurang dari 50% bergerak progresif dan tidak ada gelombang.
- d. Antara 50-80% spermatozoa bergerak progresif dan menghasilkan gerakan massa.

- e. Pergerakan sangat progresif dan segera membentuk gelombang dengan 90% spermatozoa motil atau gelombang yang sangat cepat.
- f. Gerakan sangat progresif, gelombang sangat bergerak cepat, 100% motil (Partodiharjo, 1992).

Menurut Perry (1968) kejutan dingin (cold shock) akan mengakibatkan gangguan motilitas secara permanen yang disebabkan turunnya temperatur secara tiba-tiba sehingga rendahnya aktifitas metabolisme spermatozoa. Gangguan ini dapat terjadi pada dinding sel dan bagian vital substansi seperti protein, lemak, kalsium yang mengakibatkan menurunnya motilitas sperma.

Abnormalitas Spermatozoa. Pada umumnya setiap penyimpangan morfologi dari struktur spermatozoa normal dipandang sebagai abnormalitas. Abnormalitas sperma dapat terjadi di kepala dan ekor. Bloom (1950) yang dikutip oleh Toelihere (1985) mengklarifikasikan abnormalitas spermatozoa primer dan sekunder. Abnormalitas primer terjadi karena kelainan-kelainan spermatogenesis didalam tubuli seminiferi atau epitel kecambah, meliputi kepala yang terlampau besar (makro cephalic), kepala terlampau kecil (mikro cephalic), kepala pendek melebar, pipih memanjang, filiformis, kepala rangkap dua, ekor berganda, bagian tengah yang melipat, membengkok, membesar, pyriformis atau bertaut abaxial, pada pangkal kepala dan ekor melingkar, putus, atau terbelah. Termasuk kedalam abnormalitas sekunder ekor yang terputus, kepala tanpa ekor, bagian tengah yang melipat, adanya butiran-butiran protoplasma proximal atau distal, akrosoma terlepas (Toelihere, 1985).

Persentase Hidup Spermatozoa. Menurut Nalbandov (1990) sel sperma mati dalam jumlah kecil tidak mempengaruhi fertilitas yang normal tetapi ejakulat

yang mempengaruhi fertilitas yang normal, tetapi ejakulat yang mengandung sebagian sel sperma mati (mendekati 50% dari jumlah seluruhnya) menunjukkan adanya gangguan fertilitas yang sempurna. Pewarnaan dengan eosin-nigrosin umumnya digunakan untuk menaksirkan persentase hidup atau mati spermatozoa (Laing, 1979). Selanjutnya ditambahkan oleh Toelihere (1985) bahwa permukaan sperma dibungkus oleh membrane lipoprotein, apabila sel tersebut mati, permeabilitas membrannya meninggi terutama daerah pangkal kepala dan hal ini merupakan dasar pewarnaan semen yang membedakan sperma hidup dan yang mati. Zat warna yang umumnya dipakai adalah eosin. Malahan spermatozoa yang hidup dapat dipisahkan dengan yang mati dengan filtrasi atau penyaringan melalui butir-butir gelas.

Membran Plasma Utuh (MPU). Menurut Toelihere (1981) Membran Plasma terdiri dari 52% protein, 40% lemak, dan 8% karbohidrat. Lehninger (1988) menyatakan bahwa tiap sel dikelilingi oleh membran tipis, membran sel disebut juga dengan membran plasma atau membran sitoplasma. Ditambahkan oleh Toelihere (1981), bahwa spermatozoa terdiri dari bagian kepala dan ekor serta permukaan ditutupi oleh lapisan membran lipoprotein. Apabila sel tersebut mati, permeabilitas membrannya tinggi, terutama didaerah pangkal kepala dan hal ini merupakan dasar pewarnaan semen yang membedakan antara sperma yang hidup dan sperma yang mati.

2.2.2 Komposisi Semen

Hafez (1980) menyatakan bahwa semen secara garis besar mengandung unsur-unsur organik dan anorganik. Yang termasuk unsur seperti: Asam Sitrat,

Fruktosa, Gliserol Fosforil (GPC), Sorbitol, dan Ergotionim. Unsur anorganik terpenting dalam semen adalah : Kalsium, Natrium, kalium, Fosfor, dan Chlor.

2.3 Morfologi Spermatozoa

Salisbury dan Van Demark (1985) menyatakan bahwa spermatozoa normal terdiri dari kepala, leher, dan ekor. Di bawah mikroskop bagian dinding depan kepala tampak sekitar dua pertiga bagian tertutup oleh akrosom. Tempat sambungan dasar akrosom dan kepala disebut cincin nucleus, diantara kepala dan badan terdapat sambungan pendek yaitu leher yang berisi sentriol proksimal, kadang dinyatakan sebagai pusat kinetik aktifitas spermatozoa. Bagian badan mulai dari leher dan berlanjut ke cincin sentriol. Bagian badan dan ekor mampu bergerak bebas, meskipun tanpa kepala. Ekor merupakan cambuk, membantu mendorong spermatozoa bergerak maju.

2.4 Pengenceran Semen

Dalam usaha meningkatkan daya guna seekor pejantan unggul setiap ejakulasi diperlukan pengawet dengan jalan pengenceran. Pengenceran bertujuan untuk memperbesar volume, melindungi spermatozoa selama proses pendinginan, dan memperpanjang masa hidup tanpa menghilangkan kesuburannya (Anggorodi, 1979).

Menurut Toelihere (1993), unsur yang ditambahkan tersebut haruslah mempunyai fungsi yang baik sebagai berikut: (1) menyediakan zat makanan sebagai sumber energi bagi spermatozoa, (2) melindungi spermatozoa terhadap *cold shock*, (3) menyediakan suatu penyangga untuk mencegah perubahan pH akibat pembentukan asam laktat dari hasil metabolisme spermatozoa, (4) mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit yang sesuai, (5)

memperbanyak volume sehingga banyak hewan betina yang dapat di inseminasi dalam satu ejakulasi.

Pada saat sekarang ini andromed sudah banyak dipakai sebagai bahan pengencer semen. Andromed merupakan media pengencer komersial yang praktis dan sebagai media pengencer sudah memenuhi syarat yang dibutuhkan oleh spermatozoa.

2.5 Daya Tahan Hidup Spermatozoa Sebelum dan Setelah Pengenceran

Spermatozoa adalah sel yang halus yang mudah sekali mati, untuk itu semen harus dihindarkan dari panas yang berlebihan, penyimpanan yang terlalu lama pada suhu ruang, air atau bahan kimia, hubungan yang terlalu lama dengan udara luar terutama sinar matahari langsung (Partodihardjo, 1992). Toelihere (1993) menyatakan bahwa segera sesudah penampungan, semen harus diperlakukan hati-hati untuk mencegah *cold shock* atau pemanasan tinggi, kontaminasi dengan air, *urine* dan bahan-bahan kimia, pengocokan atau goncangan yang berlebih-lebihan atau ke udara atau sinar matahari langsung. Semen yang baru ditampung sebaiknya segera ditempatkan dalam tabung berisi air hangat pada suhu tubuh (37°C).

Toelihere (1993), mengemukakan spermatozoa dalam semen cair dapat tahan hidup 7 – 14 hari, tetapi sebaiknya dipakai semen yang kurang dari 14 hari. Semen cair sebelum diinseminasikan perlu diencerkan. Untuk bahan pengencer harus bersifat melindungi spermatozoa terhadap kemungkinan pengaruh yang biasa merusak akibat perlakuan pada saat pengenceran, bahan pengencer yang digunakan sebaiknya mengandung bahan-bahan yang dibutuhkan semen.

2.6 Andromed

Merupakan media pengencer komersial yang bebas protein hewani, yang menggunakan lesitin dari kacang kedelai sehingga dapat menghindari kemungkinan penularan penyakit melalui bahan pengencer dari produk asal hewan. Andromed mengandung protein, karbohidrat (fruktosa, glukosa, manosa, maltotriosa), mineral (natrium, kalsium, magnesium, klorida, fosfor, dan mangan), asam sitrat, gliserol, lemak, lesitin, dan Gliserin Phosporil choline (GPC) serta anti biotik. Andromed juga mengandung komposisi tris hydroxyl aminomethan dan buffer. Buffer berfungsi sebagai penyanggah untuk mencegah perubahan pH akibat asam laktat dari hasil metabolisme sel spermatozoa, (Minitub, 2001).

2.7 Penambahan Gliserol dalam Pengencer

Gliserol merupakan substansi yang langsung berdifusi kedalam spermatozoa. Toelihere (1993) menyatakan bahwa penambahan gliserol kedalam pengencer dapat meningkatkan daya tahan hidup spermatozoa. Selanjutnya, gliserol juga dapat mempertahankan lama hidup spermatozoa bila gliserol ditambahkan dalam pengencer semen yang disimpan pada suhu 5°C. Gliserol mampu berikatan dengan air, mampu melewati membran sel dan tidak beracun selama paparan sel dalam konsentrasi antara sekitar 1-5 mol/l, tergantung pada jenis sel. Tindakan fisiologis gliserol selama kriopreservasi spermatozoa berlangsung adalah menggantikan air intraselular yang diperlukan untuk pemeliharaan volume sel, interaksi dengan ion dan makromolekul dan menekan titik beku air dan akibatnya menurunkan konsentrasi elektrolit pada fraksi yang dicairkan sehingga es kurang terbentuk pada temperatur berapapun (Holt 2000., Medeiros *et al.*, 2002).

Gliserol banyak digunakan sebagai bahan pengencer yang bertujuan untuk melindungi spermatozoa. Konsentrasi gliserol yang digunakan berbeda tergantung jenis semen serta pengencer yang digunakan. Disampaikan oleh Azizah dan Arifiantini (2009) yaitu gliserol bersifat toksik pada konsentrasi yang tinggi, sebaliknya jika konsentrasi yang digunakan terlalu rendah maka daya protektifnya akan berkurang.



III. MATERI DAN METODE

3.1 Materi Penelitian

Materi yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah Semen Kerbau yang ditampung dengan Vagina Buatan yang terdapat pada Balai Inseminasi Buatan (BIB) Tuah Sakato, selama 6 kali penampungan. Penampungan semen dilakukan 2 (dua) kali dalam satu minggu (Senin dan Jum'at) penampungan dilakukan pada pagi hari. Kerbau yang ada di BIB ini berjumlah 3 ekor, sedangkan yang semennya diambil hanya satu ekor kerbau yang berumur 4 tahun. Dan 2 ekor kerbau yang lain sudah afkir.

Bahan-bahan yang digunakan seperti: andromed, gliserol, larutan pewarna eosin-negrosin, air hangat (37°C), alkohol 70%, aquabides, tissue, vaselin, dan lain-lain.

Peralatan yang akan digunakan adalah peralatan untuk penampungan, dan pengenceran semen seperti: 1 set vagina buatan, kandang jepit, termometer, kompor, hotplate, gelas ukur, mikroskop, TV Monitor, haemocytometer, objek glass, cover glass, pipet tetes, aluminium foil, rak besi, batang pengaduk, kertas indikator pH.

3.2 Metode Penelitian

1. Penampungan semen dengan vagina buatan

Penampungan semen kerbau dilakukan dengan metode vagina buatan. Persiapan vagina buatan adalah sebagai berikut : Vagina buatan terdiri dari selongsong karet tipis yang dimasukkan kedalam silinder karet tebal. Lipat dan kaitkan karet tipis pada masing-masing ujung silinder karet yang tebal dengan menggunakan gelang-gelang karet yang dipasang 5 cm dari ujung silinder. Sebuah corong penampung dari karet tipis dipasang pada salah satu ujung vagina buatan

dan dieratkan dengan karet gelang. Pada ujung corong penampung dipasang sebuah tabung pengumpul semen berskala, lalu diikat pula dengan karet gelang. Air panas dengan suhu 50 sampai 70⁰ C dimasukkan kedalam ruang antara silinder dan selongsong karet yang tipis melalui lubang pada silinder dengan volume setengah sampai dua pertiga penuh. Suhu vagina buatan dipertahankan pada waktu penampungan berkisar antara 40- 52⁰ C. Udara ditiupkan melalui pentil silinder yang gunanya untuk menambah tekanan pada vagina buatan. Kemudian dengan sebatang ebonite atau gelas yang steril oleskan bahan pelican sampai setengah panjang batang bagina buatan.

Setelah vagina buatan disiapkan, pejantan yang akan ditampung semennya dibawa kekandang penampungan yang telah tersedia betina pemancing. Penampung berada disebelah kanan memegang vagina buatan dengan kemiringan 45⁰ dari tanah. Untuk mempertinggi libido pejantan diusahakan dengan mengadakan *false mount*. Semen ditampung ketika ejakulasi terjadi, yang ditandai dengan dorongan yang kuat dari penis yang bereaksi dengan sempurna pada vagina buatan. Putar vagina buatan menurut angka delapan agar seluruh semen turun ke tabung penampung. Lepaskan tabung penampung. Tempatkan pada wadah yang berisi air hangat (27-37⁰C) dan segera dievaluasi. Semen yang diperoleh dilakukan pemeriksaan dan evaluasi secara makroskopis dan mikroskopis.

Cara pengenceran yaitu campurkan pengencer andromed kedalam tabung reaksi yang telah berisi semen. Agar larutan homogen dilakukan pencampuran dengan cara membolak-balikkan tabung reaksi secara perlahan. Spermatozoa hasil koleksi dibagi kedalam 4 buah tabung reaksi (A, B, C, dan D) dengan volume

yang sama, tambahkan gliserol pada tabung reaksi A = 0%, B = 6%, C = 7%, dan D = 8%.

Perbandingan pengencer dengan semen yaitu: 1 ml semen : 4 ml aquades.

Variabel yang diukur:

A. Makroskopis

- a) Volume: Volume semen dapat langsung dilihat, bila pada saat penampungan menggunakan tabung yang memiliki skala.
- b) Bau: Semen yang sudah ditampung didekatkan ke hidung untuk di amati baunya, umumnya semen yang normal berbau khas yaitu bau darah bercampur nanah.
- c) Warna: semen kerbau normal memiliki warna krem, krem keputihan atau putih susu.
- d) pH: Ditentukan dengan kertas pH universal, perubahan warna pH dicocokkan dengan warna standar.
- e) Konsistensi atau derajat kekentalan dapat langsung di ketahui dengan menggoyangkan tabung penampung semen secara perlahan-lahan. Konsistensi semen biasanya berhubungan dengan warna, misalnya semen warna krem biasanya konsistensinya pekat atau kental, sedangkan yang warna jernih atau terang biasanya konsistensinya encer.

B. Mikroskopis

- a) Gerakan Massa

Diamati dengan cara meneteskan satu tetes semen diatas objek glass dan diperiksa dibawah mikroskop dengan pembesaran 10 x 10 dan cahaya yang

dikurangi. Kemudian dilihat gelombang-gelombang yang ditimbulkan oleh gerakan spermatozoa.

b) Konsentrasi Spermatozoa :

Metode yang digunakan untuk menentukan konsentrasi spermatozoa adalah penghitungan dengan haemocytometer. Pipet diisi dengan semen yang belum diencerkan sampai tanda 0,5. Larutan NaCl 3% dihisap sampai tanda 101 pada pipet, larutan tersebut mengencerkan sekaligus membunuh spermatozoa. Campuran ini dikocok hati-hati menurut angka delapan selama dua sampai tiga menit, beberapa tetes dibuang dan dikocok lagi. Beberapa tetes lagi dibuang. Kemudian satu tetes diletakkan dibawah gelas penutup pada kamar hitung sel darah merah. Dihitung dibawah mikroskop dengan pembesaran 45 x 10. Setiap kamar mempunyai 16 ruangan kecil dan didalam 5 kamar terdapat 80 ruangan kecil. Seluruh gelas haemacytometer memiliki 400 ruangan kecil dengan volume 0.1 mm^3 dan pengenceran 200 kali.

c) Motilitas Spermatozoa

Satu atau dua tetes semen diteteskan pada gelas objek yang bersih dan kering, tutup dengan gelas penutup fungsinya untuk penipisan dan mencegah penguapan. Periksa dibawah mikroskop, mula-mula dengan pembesaran 10 x 10 kemudian dengan pembesaran 45 x 10. Penilaian atau penghitungan motilitas spermatozoa dihitung berdasarkan penaksiran. Motilitas dibawah 40 % merupakan semen yang kurang baik dan sering dihubungkan dengan infertilitas. Kebanyakan pejantan fertile mempunyai motilitas 50-80% spermatozoa yang motil aktif progresif.

d) Persentase Hidup Spermatozoa

Penentuan persentase hidup spermatozoa dilakukan menurut pewarnaan differensial (Toelihere, 1993) yaitu dengan meneteskan zat warna eosin pada gelas objek yang bersih dan kering, kemudian ambil sedikit semen lalu aduk dengan batang pengaduk. Buat preparat ulas yang tipis dan segera keringkan, tutup dengan gelas penutup dan periksa dibawah mikroskop.

Kepala spermatozoa yang telah mati akan menyerap zat warna merah sedangkan yang hidup akan terlihat bening. Hitung sekurang-kurangnya 200 spermatozoa.

$$\text{Persentase Hidup} = \frac{\text{jumlah spermatozoa yang hidup}}{\text{jumlah spermatozoa dihitung}} \times 100\%$$

d) Abnormalitas Spermatozoa

Adalah penyimpangan morfologi dari bentuk spermatozoa normal. Periksa dibawah mikroskop dengan pembesaran 10 x 40, hitung jumlah spermatozoa yang hidup dan yang mati sekurang-kurangnya 200. Abnormalitas yang dilihat adalah abnormalitas sekunder seperti kepala dan ekor terputus, ekor menggulung, leher berbelit dan kepala terlipat.

$$\% \text{ Abnormalitas} = \frac{\text{jumlah spermatozoa abnormal}}{\text{jumlah spermatozoa yang dihitung}} \times 100\%$$

e) Membran Plasma Utuh (MPU)

Dihitung spermatozoa yang memiliki membran plasma yang masih utuh. Persentase MPU dievaluasi dengan metode *osmotic resistance test* (ORT). Komposisi larutan hipoosmotik terdiri atas: 0,9 g fruktosa + 0,49 g natrium sitrat yang dilarutkan dengan aquabidestilata hingga mencapai volume 100 ml. Sebanyak 200 µl larutan hipoosmotik ditambahkan dengan 20 µl semen dan

dicampur hingga homogen kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 45 menit. Buat preparat ulas tipis pada gelas obyek kemudian evaluasi dengan mikroskop cahaya pembesaran 400x terhadap minimum 200 spermatozoa. Spermatozoa yang memiliki Membran Plasma Utuh ditandai oleh ekor melingkar atau menggelembung, sedangkan yang rusak ditandai oleh ekor lurus dan putus.

$$\% MPU = \frac{\text{jumlah MPU}}{\text{jumlah spermatozoa yang dihitung}} \times 100\%$$

Dalam penelitian ini digunakan Rancangan Acak Kelompok (Steel dan Torrie, 1989). Penelitian ini terdiri dari 4 kali perlakuan dan 6 kali ulangan. Perlakuan A (0% gliserol), perlakuan B (6% gliserol), perlakuan C (7% gliserol), dan perlakuan D (8% gliserol).

Model umum Rancangan Acak Kelompok

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \sum_{ijk}$$

Keterangan :

Y_{ij} = Nilai pengamatan perlakuan ke - i dan ulangan ke - j.

μ = Nilai tengah umum.

α_i = Pengaruh perlakuan ke - i.

β_j = Pengaruh kelompok ke - j.

ε_{ij} = Pengaruh sisa (galat) ulangan ke - j.

i = Perlakuan (1,2,3, dan 4).

j = Ulangan ke (1,2,3,4, 5, dan 6).

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Labor Balai Inseminasi Buatan (BIB) Tuah Sakato Payakumbuh pada tanggal 02 April sampai 12 Mei 2012.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Kualitas dan Kuantitas Semen Segar Kerbau

Dari hasil penampungan semen seekor kerbau yang berlangsung pada tanggal 02 April 2012 sampai 12 Mei 2012 sebanyak 6 kali penampungan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 : Hasil Evaluasi Semen dari Seekor Kerbau Pejantan

| Penilaian | Ulangan/ Kelompok | | | | | | Total | Rata-rata |
|------------------------|-------------------|------|------|------|------|------|-------|-------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | | |
| Volume (ml) | 2 | 1.5 | 1.5 | 1.5 | 2 | 1.2 | 9.7 | 1.61 |
| Warna | P.S | P.S | K | P.S | K | K | | P.S-K |
| Kekentalan | P | P | S | K | P | P | | S-P |
| pH | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | | 7 |
| Bau | Khas | Khas | Khas | Khas | Khas | Khas | | Khas |
| Gerakan massa | +++ | +++ | ++ | +++ | ++ | ++ | | ++ - +++ |
| Konsentrasi (10^7) | 160 | 160 | 130 | 160 | 130 | 140 | 880 | 146.6 |
| Motilitas (%) | 75 | 75 | 70 | 75 | 70 | 70 | 435 | 72.5 |
| Persentase Hidup (%) | 83.5 | 82 | 80.5 | 81.6 | 77.8 | 79 | 484.4 | 80.7 |
| Abnormalitas (%) | 13.2 | 12.3 | 15.6 | 13.7 | 14.3 | 15.7 | 85.7 | 14.2 |
| MPU (%) | 80 | 75.4 | 76 | 78 | 78.9 | 76 | 464.3 | 77.3 |

K : Krem
P.S : Putih Air Susu
P : Pekat
S : Sedang

Volume. Rataan volume semen yang diperoleh selama penelitian adalah 1.61 ml. Kerbau yang digunakan dalam penelitian ini adalah kerbau muda yang baru mencapai dewasa kelamin, sehingga hasil ejakulasinya belum maksimal. Hal ini sesuai dengan pendapat Vale (1994) yang menyatakan bahwa kerbau muda akan menghasilkan volume 1-3 ml per ejakulasi. Namun hasil ini masih berada dibawah rata-rata penelitian yang dilakukan oleh Herdis, B. Purwantara, I. Supriatna, dan I. G. Putu (1999) yang mendapatkan rata-rata volume ejakulasi kerbau umur 3-4 tahun adalah 1.88. Pada umumnya volume semen akan

bertambah banyak sesuai dengan umur, besar tubuh, perubahan keadaan kesehatan reproduksinya, kekuatan dan frekuensi penggunaannya (Salisbury dan Van Demark, 1985).

Warna. Warna semen yang diperoleh selama penelitian dari enam kali penampungan dari seekor kerbau diperoleh adalah putih air susu sampai krem. Sesuai dengan pendapat Vale (1994) yang menyatakan bahwa warna semen kerbau bervariasi dari putih air susu sampai krem, dan perbedaan warna semen disebabkan oleh konsentrasi spermatozoa didalamnya. Partodihardjo (1992) mengemukakan bahwa semakin keruh biasanya jumlah sperma per ml semen ini semakin banyak.

Kekentalan. Dari hasil enam kali penampungan semen yang dilakukan selama penelitian diperoleh kekentalan semen sedang sampai pekat. Kekentalan dan sifat-sifat semen tergantung pada konsentrasi spermatozoa per ml semen (Salisbury dan VanDenmark, 1985). Koonjaenak dan Martinez (2007) menambahkan bahwa kekentalan dan warna semen kerbau dipengaruhi oleh umur pejantan.

pH. Pada enam kali penampungan semen mempunyai pH (derajat keasaman) 7, pH yang demikian merupakan kondisi normal dari semen kerbau. Hasil yang didapat sesuai dengan yang kemukakan oleh Vale (1994) bahwa pH semen kerbau 6.7 – 7.5 dan Koonjaenak dan Martinez (2007) yaitu 6.9 – 7.

Bau. Bau semen yang diperoleh selama penelitian adalah normal, berbau khas. Hal ini sesuai pendapat Toelihere (1993) bahwa bau semen normal adalah berbau khas atau merangsang atau bau darah bercampur nanah.

Gerakan Massa. Berdasarkan hasil evaluasi yang dilakukan selama penelitian pada seekor kerbau pejantan dari enam kali penampungan adalah tiga kali penampungan semen mempunyai gerakan massa baik untuk (++) dan tiga kali penampungan mempunyai gerakan massa sangat baik (+++), terlihat gelombang-gelombang yang besar, banyak, gelap, tebal, dan aktif. Ini sesuai dengan pernyataan Toelihere (1993) bahwa dalam suatu kelompok mempunyai kecenderungan untuk bergerak bersama-sama ke suatu arah membentuk gelombang-gelombang yang tebal dan tipis, bergerak cepat atau lambat tergantung dari konsentrasi spermatozoa hidup didalamnya. Ditambahkan oleh Partodihardjo (1992) bahwa syarat minimal untuk pengolahan semen yang mempunyai gerakan massa baik (++).

Konsentrasi. Penentuan konsentrasi spermatozoa sangat penting dalam penentuan kualitas spermatozoa. Dari hasil enam kali penampungan semen yang dilakukan selama penelitian diperoleh konsentrasi rata-rata dari seekor kerbau 147×10^7 . Hasil yang didapat mendekati hasil yang didapatkan oleh Amin (1998) dalam Triwulaningsih (2009) bahwa konsentrasi spermatozoa kerbau adalah 144.7×10^7 , tetapi hasil ini lebih tinggi dari pendapat Kooenjaenak dan Martinez (2007) yang menyatakan bahwa konsentrasi spermatozoa kerbau rawa di Thailand adalah $80 - 120 \times 10^7$ spermatozoa per ml. Variasi nilai konsentrasi spermatozoa kemungkinan disebabkan oleh perbedaan individu ternak yang digunakan dan kondisi ternak. Apabila individu cukup sehat dan dalam kondisi yang optimal serta diberi pakan dengan kualitas baik, maka konsentrasi spermatozoa akan memiliki nilai yang lebih baik.

Motilitas. Motilitas rata-rata yang diperoleh selama enam kali penampungan 72.5%. Angka motilitas yang didapat pada penelitian ini tergolong tinggi, melebihi batas minimum dari pemakaian untuk inseminasi buatan, sebagaimana yang dijelaskan oleh Foot tahun 1962 yang dikutip oleh Toelihere (1993) bahwa spermatozoa yang dipakai untuk inseminasi buatan minimum adalah 50 % yang hidup dan motil. Ditambahkan oleh Solihati dan Kune (2009) bahwa motilitas spermatozoanya masih berada diatas motilitas spermatozoa layak inseminasi buatan, yaitu minimal 40%. Sedangkan persentase hidup dibawah 40% tidak lagi dilakukan pengamatan. Sedangkan Vale (2010) mengemukakan syarat yang lebih rendah bahwa spermatozoa kerbau yang baik motilitasnya lebih besar dari 60%. Penentuan persentase motilitas yang tepat sangat penting dalam menentukan kadar pengenceran maksimum spermatozoa yang disiapkan untuk inseminasi buatan.

Persentase Hidup. Persentase Hidup spermatozoa yang diperoleh selama enam kali penampungan semen dengan rata-rata 80.7%. Hasil yang didapatkan dalam penelitian ini lebih rendah dari yang dikemukakan oleh Triwulaningsih (2009) bahwa persentase hidup kerbau lumpur adalah 87.57 %, tetapi masih diatas konsentrasi yang didapatkan oleh Herdis, dkk. (1999) mendapatkan rata-rata persentase hidup spermatoa kerbau adalah 78.6%. Vale (2010) juga mengemukakan bahwa persentase hidup dari spermatozoa kerbau yang baik lebih besar dari 70%.

Abnormalitas. Abnormalitas spermatozoa yang diperoleh selama enam kali penampungan semen adalah dengan rata-rata 14.2 %. Persentase abnormalitas yang diperoleh selama penelitian berada dibawah abnormalitas spermatozoa

kerbau yang dikemukakan oleh Herdis, dkk. (1999) yaitu 19%. Abnormalitas yang didapat masih memenuhi syarat pakai untuk inseminasi buatan. Pernyataan ini didukung oleh Toelihere (1985) yang menyatakan bahwa selama abnormalitas sperma belum mencapai 20% dari contoh semen, maka semen tersebut masih dapat dipakai untuk inseminasi buatan. Vale (2010) mengemukakan hal yang sama bahwa spermatozoa kerbau yang baik mempunyai abnormalitas kecil dari 20%.

MPU : Membran Plasma Utuh spermatozoa yang diperoleh selama enam kali penampungan semen dengan rata-rata adalah 77.3%. Menurut Amin (1998) membran Plasma Utuh (baik) mutlak harus dimiliki oleh spermatozoa agar kelangsungan hidupnya tetap terjadi. Kerusakan membran plasma akan menyebabkan hilangnya daya motilitas dan kemampuan spermatozoa untuk fertilisasi. Revell dan Mrode dalam Malvin (2004) menyatakan indikator infertilitas pada manusia ditentukan apabila memiliki keutuhan Membran Plasma di bawah 50%, hal ini dapat dijadikan sebagai pembanding.

Perbedaan kualitas spermatozoa untuk masing individu disebabkan oleh oleh beberapa faktor seperti lama musim, umur ternak dan pakan. Lama penyinaran atau panjang siang hari merupakan faktor lingkungan penting yang mempengaruhi reproduksi dan aktivitas seksual kerbau. Musim mempunyai pengaruh terhadap libido dan kualitas spermatozoa yang dihasilkan (Sansone *et al.*, 2000). Kualitas semen kerbau yang didapatkan masih rendah diduga karena kerbau yang digunakan dalam penelitian ini adalah kerbau yang baru mencapai dewasa kelamin yaitu berumur 2.5 - 3 tahun dan baru mulai ditampung untuk dijadikan semen beku. Kerbau yang lebih dewasa akan menghasilkan kualitas

semen yang lebih baik dibandingkan dengan kerbau yang baru mencapai dewasa kelamin (Saeed *et al.*, 1990).

4.1 Pengaruh Perlakuan Terhadap Motilitas Spermatozoa

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan selama penelitian dapat dilihat adanya perbedaan motilitas spermatozoa kerbau pada masing-masing perlakuan seperti pada Tabel 2.

Tabel 2 Rataan Motilitas Spermatozoa Untuk Masing-masing Perlakuan.

| Perlakuan | Motilitas (%) |
|-----------|---------------------|
| A | 67.00 ^a |
| B | 61.66 ^b |
| C | 56.83 ^{bc} |
| D | 52.33 ^c |

Keterangan : Superskrip yang berbeda menunjukkan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($P < 0.01$)

Pada tabel 2 menunjukkan bahwa rata-rata motilitas spermatozoa kerbau pada masing-masing perlakuan 67.00%, 61.66%, 56.83%, 52.33%. Dimana nilai rata-rata motilitas spermatozoa pada perlakuan A (0% gliserol) menunjukkan nilai rata-rata yang paling tinggi yaitu 67.00% dan yang terendah terdapat pada perlakuan D (8% gliserol) yaitu 52.00%. Pada perlakuan A merupakan perlakuan yang memiliki nilai rata-rata tertinggi karena kandungan yang dimiliki bahan pengencer secara umum sesuai dengan yang dibutuhkan spermatozoa, agar dapat bertahan hidup, seperti yang disebutkan oleh Hardijanto dkk, (2010), tentang syarat bahan pengencer harus mengandung sumber nutrisi, bahan yang bersifat buffer, bahan anti cold shock, antibiotik, dan krioprotektan yang dapat melindungi spermatozoa selama proses pengenceran, pembekuan dan pengenceran kembali.

Hasil analisis sidik ragam (Lampiran 1) menunjukkan penambahan gliserol pada pengencer andromed memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata

($P < 0.01$) terhadap motilitas spermatozoa kerbau. Ini menunjukkan bahwa penambahan gliserol pada pengencer andromed mempengaruhi motilitas spermatozoa. Semakin tinggi penambahan gliserol maka semakin rendah motilitas spermatozoa. Menurut Rizal *et al.*, (2002) konsentrasi gliserol yang berlebihan akan menimbulkan efek toksik pada spermatozoa, sebaliknya apabila kurang, gliserol tidak akan memberikan efek yang optimal. Rendahnya persentase motilitas pada perlakuan D yaitu penambahan gliserol 8% kemungkinan disebabkan oleh efek toksik dari gliserol. Semakin tinggi dosis gliserol yang ditambahkan ke dalam pengencer, efek toksik dari gliserol juga semakin besar. Efek toksik dari gliserol adalah memodifikasi struktur membran plasma dan pada konsentrasi yang tinggi dapat menghambat metabolisme energi (McLaughlin *et al.*, 1992). Akibat terganggunya mekanisme spermatozoa, menyebabkan spermatozoa akan mengalami kekurangan energi sehingga viabilitas dan motilitasnya menurun.

4.3 Pengaruh Perlakuan Terhadap Persentase Hidup Spermatozoa

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan selama penelitian dapat dilihat adanya perbedaan persentase hidup spermatozoa kerbau pada masing-masing perlakuan seperti pada Tabel 3.

Tabel 3 Rataan Persentase Hidup Spermatozoa Untuk Tiap Perlakuan.

| Perlakuan | Persentase hidup spermatozoa (%) |
|-----------|----------------------------------|
| A | 70.51 ^a |
| B | 66.00 ^a |
| C | 61.96 ^{bc} |
| D | 54.64 ^c |

Keterangan : Superskrip yang berbeda menunjukkan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($P < 0.01$)

Pada Tabel 3. Menunjukkan bahwa rata-rata persentase hidup spermatozoa kerbau pada masing-masing perlakuan adalah 70.51%, 66.00%, 61.96%, 54.64%.

Dimana nilai rata-rata persentase hidup spermatozoa yang didapat dari perlakuan A (0% gliserol) menunjukkan nilai rata-rata tertinggi yaitu 70.51% dan yang terendah terdapat pada perlakuan D (8% gliserol) yaitu 54.64%.

Hasil analisis sidik ragam (Lampiran 1) menunjukkan penambahan gliserol pada pengencer andromed memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($P < 0.01$). Ini menunjukkan bahwa penambahan gliserol pada pengencer andromed mempengaruhi persentase hidup spermatozoa.

Penambahan gliserol 6 % (perlakuan B) dapat mempertahankan daya hidup spermatozoa yang lebih baik dari perlakuan C, dan perlakuan D. Rendahnya persentase hidup pada penambahan gliserol 8% (perlakuan D) diduga karena efek toksik dari gliserol. Efek toksik ini akan memodifikasi struktur membran plasma dan pada konsentrasi yang tinggi menghambat metabolisme energi (McLaughlin *et al.*, 1992). Gliserol juga dapat merusak struktur membran spermatozoa, menyebabkan cekaman osmotik dan menimbulkan efek negatif terhadap antibiotik di dalam pengencer (Toelihere, 1993). Dan menurut Partodiharjo (1992) penurunan persentase hidup spermatozoa disebabkan oleh adanya kontaminasi dengan alat yang kurang steril pada waktu pemeriksaan dan juga karena daya tahan hidup yang sudah melemah.

4.2 Pengaruh Perlakuan Terhadap Abnormalitas Spermatozoa

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan selama penelitian dapat dilihat adanya perbedaan abnormalitas spermatozoa kerbau pada masing-masing perlakuan seperti pada Tabel 4.

Tabel 4 Rataan Abnormalitas Spermatozoa Untuk Abnormalitas Perlakuan.

| Perlakuan | Abnormalitas (%) |
|-----------|--------------------|
| A | 26.02 ^a |
| B | 27.67 ^a |
| C | 27.96 ^a |
| D | 35.36 ^b |

Keterangan : Superskrip yang berbeda menunjukkan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($P < 0.01$)

Pada Tabel 4. Menunjukkan bahwa rata-rata abnormalitas spermatozoa kerbau pada masing-masing perlakuan adalah 26.02%, 27.67%, 27.96%, 35.36%. Dimana nilai rata-rata abnormalitas spermatozoa yang didapat dari perlakuan A (0% gliserol) menunjukkan nilai rata-rata terendah yaitu 26.02% dan yang tertinggi terdapat pada perlakuan D (8% gliserol) yaitu 35.36.

Hasil analisis sidik ragam (Lampiran 2) menunjukkan penambahan gliserol pada pengencer andromed memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($P < 0.01$) terhadap abnormalitas spermatozoa kerbau.

Ada dua macam spermatozoa abnormal menurut Partodihardjo (1992) yaitu abnormalitas primer yang meliputi kelainan pada kepala seperti kepala kecil, kepala besar, kepala kerucut, kepala dua, kepala salah bentuk, kepala bulat, berekor dua, akrosom salah bentuk, berleher besar, sedangkan abnormalitas sekunder meliputi kepala terpisah dari leher, leher patah, ekor kusut, ekor patah dan ekor tergulung. Spermatozoa yang abnormal tidak menunjukkan motilitas yang progresif. Spermatozoa abnormal biasanya disebabkan oleh kejutan dingin atau panas, sinar X, ketidak seimbangan nutrisi dan endokrin (Arifiantini, Yusuf dan Graha, 2005). Kecenderungan meningkatnya persentase abnormalitas pada penambahan gliserol 8% (perlakuan D) merupakan dosis gliserol yang tinggi akan berakibat toksik bagi spermatozoa.

Abnormalitas yang paling banyak dijumpai selama pengamatan dalam penelitian adalah abnormalitas sekunder antara lain kepala tanpa ekor, ekor patah, leher patah, leher putus, dan ekor menggulung. Abnormalitas sekunder disebabkan perlakuan ketika pembuatan preparat ulas (Solihati *et al.*, 2008). Selain itu, juga ditemui bentuk dari abnormalitas primer seperti kepala terlampau kecil (*microcephalic*) dan ekor berganda.

4.3 Pengaruh Perlakuan Terhadap Membran Plasma Uterus (MPU) Spermatozoa.

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan selama penelitian dapat dilihat adanya perbedaan MPU spermatozoa kerbau pada masing-masing perlakuan seperti pada Tabel 5.

Tabel 5 Rataan Membran Plasma Uterus (MPU) Spermatozoa Untuk Tiap Perlakuan.

| Perlakuan | MPU (%) |
|-----------|---------------------|
| A | 72.05 ^a |
| B | 69.16 ^a |
| C | 63.83 ^{bc} |
| D | 60.83 ^c |

Keterangan : Superskrip yang berbeda menunjukkan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($P < 0.01$)

Pada tabel 5 menunjukkan bahwa rata-rata MPU spermatozoa kerbau pada masing-masing perlakuan adalah 72.05%, 69.16%, 63.83%, 60.83%. Dimana nilai rata-rata MPU spermatozoa yang didapat dari perlakuan A (0% gliserol) menunjukkan nilai rata-rata yang paling tinggi yaitu 72.05% dan yang terendah terdapat pada perlakuan D (8% gliserol) yaitu 60.83%.

Hasil analisis sidik ragam (Lampiran 4) menunjukkan pemberian gliserol pada pengencer andromed memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($P < 0.01$) terhadap MPU spermatozoa kerbau.

Jika dilihat dari persentase MPU pada perlakuan A (0% gliserol) memperoleh hasil yang tinggi, jika dibandingkan dengan perlakuan D (penambahan 8% gliserol) perbedaan ini disebabkan tingkat konsentrasi gliserol yang tidak optimal (gliserol yang terlalu tinggi) akan menyebabkan terjadinya toksik bagi spermatozoa dan akan menyebabkan efek negatif terhadap bahan pengencer serta akan mengakibatkan kerusakan pada membran plasma sel spermatozoa. Akibat efek toksik dari gliserol maka membran plasma spermatozoa akan mengalami modifikasi struktur dan mengakibatkan terganggunya transport aktif zat-zat yang menjadi sumber energi bagi spermatozoa seperti glukosa, asam amino dan asam lemak. Akibat terganggunya mekanisme ini spermatozoa akan kekurangan energi sehingga viabilitas serta motilitasnya menurun (Correa dan Zavos, 1994). Menurut Azizah dan Arifiantini (2009) menyatakan bahwa penambahan gliserol 7.5% dan 10% terlalu tinggi pada pembekuan semen kuda yang berakibat toksik bagi spermatozoa.

V. KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan

1. Penambahan level gliserol berpengaruh sangat nyata ($P < 0.01$) terhadap Motilitas, Persentase Hidup, Abnormalitas, Membran Plasma Utuh (MPU) spermatozoa Kerbau.
2. Perlakuan A (penambahan 0% gliserol) merupakan perlakuan yang terbaik dengan motilitas (67.00%), persentase hidup (70.51%), abnormalitas (26.02%), dan Membran Plasma Utuh (72.05%).

5.2 Saran

Sebaiknya pada pengenceran semen kerbau gunakan pengencer andromed saja, tanpa penambahan gliserol karena pada pengencer ini sudah mengandung bahan yang dibutuhkan oleh spermatozoa.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggorodi, C. E. 1979. Ilmu Makanan Ternak. Gramedia, Jakarta.
- Amin, M.R. 1998. Efektifitas Plasma Semen Sapi dan Kerbau dari Berbagai Pengencer dalam Meningkatkan Kualitas Semen Beku Kerbau Lumpur. Tesis. Program Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Arifiantini, R. I dan T.L. Yusuf dan N. Graha. 2005. *Longivitas dan recovery rate* pasca *thawing* semen beku sapi Friesian Holstein menggunakan bahan pengencer yang berbeda. Buletin Peternakan. 28 (3): 53-61.
- Azizah dan R. I. Arifiantini. 2009. Kualitas Semen Beku Kuda pada Pengencer Susu Skim dengan Konsentrasi gliserol yang Berbeda. Jurnal Veteriner 10 (2) : 63-70.
- Correa, J.R, and Zavos, P.M. 1994. The hipoosmotic swelling test: it is employment as an assay to evaluate the fuctional integrity of the frozen-thawed bovine sperm membran. *Theriogenology*. 42: 351-360.
- Hafez, E. S. E. 1980. Reproduction In Farm Animalals, 4 th Ed. Lea and Febringer.
- Hardijanto., S. Trilas., H. Tatik., S. Suherni., S. Tri. 2010. Buku Ajar Inseminasi Buatan. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Koonjaenak S. and H. R. Martinez. 2007. Assessment of semen quality in Swamp Buffalo AI Bulls in Thailand. *Ital. J. Anim. Sci.* 6:701-704. Philadelphia, USA.
- Laing, J. A. 1979. Ferlility an Infertility in Dosmetic Animals. 3 th Ed. Bailiere Tindall, London.
- Lehninger, A. L. 1988. Dasar - dasar Biokimia Jilid I. (Terjemahan Maggy Thenawidja). Erlangga. Jakarta.
- Mann, T. 1968. Evaluation of Sement by Chemical Analysis. P. 61 – 75. In E. J. Perry ed. Ed. The Artificial Ed. Ritgerts University Press, New York.
- Mclaughlin, E. A., Ford, W. C. L., and Hull, M. G. R. 1992. Motility characteristics and membrane integrity of cryopreserved human spermatozoa. *J. Reprod.* 95: 527-534.
- Medeiros C.M.O, Forell F, Oliveira ATD. and Rodrigues JL. 2002. Current status of sperm cryopreservation: why is it better. *Theriogenology*. 57:327-344.

- Minitub. 2001. Certificate Andromed. Minitub Abfull und Labortechnik GmbH & Co KG. Germany.
- Nalbandov, A. V. 1990. Fisiologi Reproduksi Pada Mamalia dan Unggas. (Terjemahan Sunaryo K). Universitas Indonesia, Jakarta.
- Partodihardjo, S. 1992. Ilmu Reproduksi Hewan. Cetakan Ke-3. Mutiara Sumber Widya, Jakarta.
- Rivai, M. dan I. Rianto. 1994. Kerbau Rawa Asia. Fakultas Peternakan Universitas Andalas. Padang.
- Rizal, M., Toelihere. M.R., Yusuf. T.L., Purwantara. B., dan Situmorang. 2002. Kaulitas semen beku domba Garut dalam berbagai dosis gliserol. J. Vet. 7 (3): 194-199.
- Saladin, R., A, Syarif dan M. Rivai. 1978. Ternak Kerbau. Fakultas Peternakan Universitas Andalas. Padang.
- Salisbury, G. W. dan Van Demark. 1985. Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan Pada Sapi (terjemahan oleh R. Djanuar). Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Sansone G, Nastri M.J.F. and Fabbrocini A. 2000. Storage of buffalo (*Bubalus bubalis*) semen. Anim. Reprod. Sci. 62:55-76.
- Seit, B. 1954. Pembuahan Buatan. Penerbit dan Balai Buku Indonesia, Jakarta.
- Solihati, N., R. Idi, S.D. Rasad, M. Rizal dan M. Fitriati. 2008. Kualitas spermatozoa cauda *epididymis* sapi peranakan ongol (PO) dalam pengencer susu, tris dan sitrat kuning telur pada penyimpanan 4-5⁰ C. J. Anim. Prod. Vol. 10 No. 1 : 22-29.
- Toelihere, M. R. 1985. Fisiologi Reproduksi Pada Ternak. Penerbit Angkasa, Bandung.
- Taurin, B., S. Dewiki dan S. Y. P. K. Hardini. 2000. Materi Pokok Inseminasi Buatan. Universitas Terbuka, Jakarta.
- Vale, W.G. 2010. Deep freezing buffalo semen-state of art. Proc. 9th World Buffalo Congr., Argentine, Buenos Aires. 83-92.

UNIVERSITAS ANDALAS

LAMPIRAN

UNTUK KEDJAJAAN BANGSA

Lampiran 1. Analisis Statistik Pengaruh Perlakuan Terhadap Motilitas Spermatozoa

| Ulangan | Perlakuan | | | | Jumlah |
|-----------|-----------|-------|-------|-------|--------|
| | A | B | C | D | |
| 1 | 70 | 61 | 59 | 55 | 246 |
| 2 | 67 | 60 | 57 | 52 | 236 |
| 3 | 65 | 63 | 58 | 51 | 237 |
| 4 | 68 | 64 | 52 | 51 | 235 |
| 5 | 64 | 60 | 57 | 55 | 236 |
| 6 | 68 | 62 | 58 | 50 | 238 |
| Total | 402 | 370 | 341 | 314 | 1428 |
| Rata-rata | 67 | 61.66 | 56.83 | 52.33 | |

$$FK = \frac{(1428)^2}{24}$$

$$= 84966$$

$$JKT = (70)^2 + \dots + (50)^2 - 84966$$

$$= 689$$

$$JKK = \frac{(246)^2 + \dots + (238)^2}{4} - 84966$$

$$= 20.5$$

$$JKP = \frac{(402)^2 + \dots + (314)^2}{6} - 84966$$

$$= 597.5$$

$$JKS = 689 - 20.5 - 597.5$$

$$= 71$$

$$KTK = \frac{20.5}{5}$$

$$= 4.1$$

$$KTP = \frac{597.5}{3}$$

$$= 199.16$$

$$KTS = \frac{71}{15}$$

$$= 4.73$$

$$F \text{ hit } P = \frac{199.167}{4.73}$$

$$= 42.07$$

$$F \text{ hit } K = \frac{4.1}{4.73}$$

$$= 0.866$$

Tabel Sidik Ragam

| Sumber Keragaman | Db | JK | KT | F hit | F tabel | |
|------------------|----|-------|---------|---------|---------|------|
| | | | | | 0.05 | 0.01 |
| Perlakuan | 3 | 597.5 | 199.167 | 42.07** | 3.29 | 5.42 |
| Kelompok | 5 | 20.5 | 4.1 | 0.866 | 2.9 | 4.26 |
| Sisa | 15 | 71 | 4.73 | | | |
| Total | 23 | 689 | | | | |

Keterangan: ** = Berbeda sangat nyata ($P > 0.01$)

ns = berbeda tidak nyata

Uji Jarak Berganda Duncan Multi Range Test (DMRT)

$$SE = \sqrt{\frac{KTS}{r}}$$

$$= 0.99$$

$$LSR = SE.SSR$$

| PERLAKUAN | LSR | | SE | LSR | |
|-----------|------|------|------|--------|--------|
| | 0.05 | 0.01 | | 0.05 | 0.01 |
| 2 | 3.01 | 4.17 | 0.99 | 2.8294 | 3.9198 |
| 3 | 3.16 | 4.37 | | 2.9704 | 4.1078 |
| 4 | 3.25 | 4.5 | | 3.055 | 4.23 |

| | | | |
|----|-------|-------|-------|
| A | B | C | D |
| 67 | 61.66 | 56.83 | 52.33 |

| Perlakuan | Selisih | 0.05 | 0.01 | Ket |
|-----------|---------|------|------|-----|
| A-B | 5.34 | 2.82 | 3.91 | ** |
| A-C | 10.17 | 2.97 | 4.1 | ** |
| A-D | 14.67 | 3.05 | 4.23 | ** |
| B-C | 4.83 | 2.82 | 3.91 | ** |
| B-D | 9.33 | 2.97 | 4.1 | ** |
| C-D | 4.5 | 3.05 | 4.23 | ** |

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata

Superskrip :

A^a B^b C^{bc} D^c

Lampiran 2. Analisis Statistik Pengaruh Perlakuan Terhadap Persentase Hidup Spermatozoa

| Ulangan | Perlakuan | | | | Jumlah |
|-----------|-----------|--------|--------|--------|---------|
| | A | B | C | D | |
| 1 | 72 | 64 | 60 | 58 | 254 |
| 2 | 71.16 | 62 | 60 | 55 | 248.16 |
| 3 | 70.08 | 71.02 | 69.12 | 55.85 | 266.07 |
| 4 | 73.12 | 70 | 59 | 49 | 251.12 |
| 5 | 67 | 65 | 63 | 57 | 252 |
| 6 | 69.72 | 64 | 60.67 | 53 | 247.39 |
| Total | 423.08 | 396.02 | 371.79 | 327.85 | 1518.74 |
| Rata-rata | 70.51 | 66.00 | 61.96 | 54.64 | |

$$FK = \frac{(1518.74)^2}{24}$$

$$= 96107.1$$

$$JKT = (72)^2 + \dots + (53)^2 - 96107.1$$

$$= 1028.72$$

$$JKK = \frac{(254)^2 + \dots + (247.39)^2}{4} - 96107.1$$

$$= 57.7914$$

$$JKP = \frac{(423.08)^2 + \dots + (327.85)^2}{6} - 96107.1$$

$$= 816.536$$

$$JKS = 1028.72 - 57.791 - 816.536$$

$$= 154.401$$

$$KTK = \frac{57.791}{5}$$

$$= 11.558$$

$$KTP = \frac{816.526}{3}$$

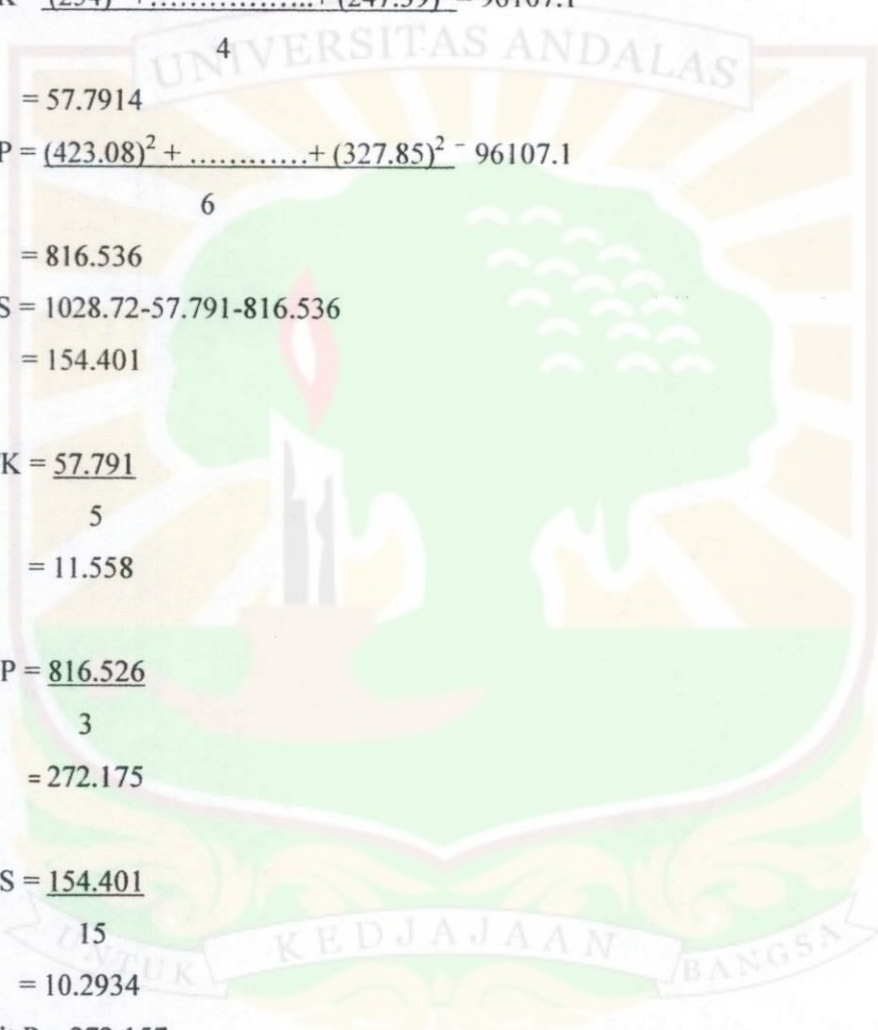
$$= 272.175$$

$$KTS = \frac{154.401}{15}$$

$$= 10.2934$$

$$F_{hit P} = \frac{272.157}{10.2934}$$

$$= 26.441$$



$$F \text{ hit } K = \frac{11.5583}{10.2934} = 1.122$$

Tabel Sidik Ragam

| Sumber Keragaman | Db | JK | KT | F hit | F tabel | |
|------------------|----|---------|---------|----------|---------|------|
| | | | | | 0.05 | 0.01 |
| Perlakuan | 3 | 816.526 | 272.175 | 26.441** | 3.49 | 5.95 |
| Kelompok | 5 | 57.791 | 11.558 | 1.122 | 3.26 | 5.41 |
| Sisa | 15 | 154.401 | 10.2934 | | | |
| Total | 23 | 1028.72 | | | | |

Keterangan: ** = Berbeda sangat nyata ($P < 0.05$)

Uji Jarak Berganda Duncan Multi Range Test (DMRT)

$$SE = \sqrt{\frac{KTS}{r}} = 2.01$$

$$LSR = SE \cdot SSR$$

Tabel SSR signifikan 5% dan 1%

| Perlakuan | SSR | | SE | LSR | |
|-----------|------|------|------|--------|--------|
| | 0.05 | 0.01 | | 0.05 | 0.01 |
| 2 | 3.01 | 4.17 | | 6.0501 | 8.3817 |
| 3 | 3.16 | 4.37 | 2.01 | 6.3516 | 8.7837 |
| 4 | 3.25 | 4.5 | | 6.5325 | 9.045 |

Urutan nilai rata-rata perlakuan dari yang terbesar sampai yang terkecil

| A | B | C | D |
|-------|-------|-------|-------|
| 70.51 | 66.00 | 59.96 | 64.64 |

Selish rata-rata perlakuan dan dibandingkan dengan uji DMRT

Perlakuan Selish LSR 5 LSR 1 % Keterangan

| | A-B | A-C | A-D | B-C | B-D | C-D | |
|--|------|-------|-------|------|-------|------|----|
| | 4.51 | 10.55 | 15.87 | 6.04 | 11.36 | 5.32 | ns |
| | 6.05 | 6.35 | 6.53 | 6.05 | 6.35 | 6.53 | ns |
| | 8.38 | 8.78 | 9.04 | 8.38 | 8.78 | 9.04 | ** |
| | 6.05 | 6.35 | 6.53 | 6.05 | 6.35 | 6.53 | ** |
| | 8.38 | 8.78 | 9.04 | 8.38 | 8.78 | 9.04 | * |
| | 6.05 | 6.35 | 6.53 | 6.05 | 6.35 | 6.53 | ** |
| | 8.38 | 8.78 | 9.04 | 8.38 | 8.78 | 9.04 | ** |

Keterangan : * = Berbeda nyata ** = Berbeda sangat nyata ns = Berbeda tidak nyata

Superskrip :

A^a B^a C^{bc} D^c

Lampiran 3. Analisis Statistik Pengaruh Perlakuan Terhadap Abnormalitas Spermatozoa

| Ulangan | Perlakuan | | | | Jumlah |
|-----------|-----------|--------|--------|--------|--------|
| | A | B | C | D | |
| 1 | 25 | 30 | 32 | 39 | 126 |
| 2 | 23 | 32 | 36 | 37 | 128 |
| 3 | 27 | 25 | 23 | 37 | 112 |
| 4 | 24.7 | 30 | 32 | 30 | 116.7 |
| 5 | 28.3 | 25 | 23.05 | 32 | 108.35 |
| 6 | 28.17 | 24.02 | 21.71 | 37.17 | 111.07 |
| Total | 156.17 | 166.02 | 167.76 | 212.17 | 702.12 |
| Rata-rata | 26.028 | 27.67 | 27.96 | 35.361 | |

$$FK = \frac{(702.12)^2}{24}$$

24

= 20540.5

$$JKT = (25)^2 + \dots + (37.17)^2 - 20540.5$$

$$= 638.2$$

$$JKK = \frac{(126)^2 + \dots + (111.07)^2}{4} - 20540.5$$

$$= 84.26$$

$$JKP = \frac{(156.17)^2 + \dots + (212.17)^2}{6} - 20540.5$$

$$= 311.35$$

$$JKS = 638.2 - 84.26 - 311.35$$

$$= 242.58$$

$$KTK = \frac{84.26}{5}$$

$$= 16.852$$

$$KTP = \frac{311.35}{3}$$

$$= 103.783$$

$$KTS = \frac{242.58}{15}$$

$$= 16.172$$

$$F \text{ hit } P = \frac{311.35}{16.172}$$

$$= 6.417$$

$$F \text{ hit } K = \frac{16.853}{16.172}$$

$$= 1.042$$

| Sumber Keragaman | Db | JK | KT | F hit | F tabel | |
|------------------|----|---------|---------|---------|---------|------|
| | | | | | 0.05 | 0.01 |
| Perlakuan | 3 | 311.352 | 103.784 | 6.417** | 3.49 | 5.95 |
| Kelompok | 5 | 84.268 | 16.853 | 1.042 | 3.26 | 5.41 |
| Sisa | 15 | 242.583 | 16.172 | | | |
| Total | 23 | 638.204 | | | | |

Uji Jarak Berganda Duncan Multi Range Test (DMRT)

$$SE = \sqrt{\frac{KTS}{r}}$$

$$= 1.64$$

$$LSR = SE \cdot SSR$$

Tabel SSR signifikan 5% dan 1%

| Perlakuan | SSR | | SE | LSR | |
|-----------|------|------|------|--------|--------|
| | 0.05 | 0.01 | | 0.05 | 0.01 |
| 2 | 3.01 | 4.17 | | 4.9364 | 6.8388 |
| 3 | 3.16 | 4.37 | 1.64 | 5.1824 | 7.1668 |
| 4 | 3.25 | 4.5 | | 5.33 | 7.38 |

Urutan nilai rata-rata perlakuan dari yang terkecil sampai yang terbesar

| | | | |
|-------|-------|-------|-------|
| A | B | C | D |
| 26.02 | 27.67 | 27.96 | 35.36 |

Selisih rata-rata perlakuan dan dibandingkan dengan uji DMRT

| Perlakuan | Selisih | LSR 5 % | LSR 1 % | Keterangan |
|-----------|---------|---------|---------|------------|
| A - B | 1.65 | 4.9364 | 6.8388 | ns |
| A - C | 1.94 | 5.1824 | 7.1668 | ns |
| A - D | 9.34 | 5.33 | 7.38 | ** |
| B - C | 0.29 | 4.9364 | 6.8388 | ns |
| B - D | 7.69 | 5.1824 | 7.1668 | ** |
| C - D | 7.4 | 5.33 | 7.38 | ** |

Keterangan : * = Berbeda nyata
 ** = Berbeda sangat nyata
 ns = Berbeda tidak nyata

Superskrip :

A^a B^a C^a D^b

Lampiran 4. Analisis Statistik Pengaruh Perlakuan Terhadap MPU Spermatozoa

| Ulangan | Perlakuan | | | | Jumlah |
|-----------|-----------|--------|--------|--------|--------|
| | A | B | C | D | |
| 1 | 75 | 73 | 69 | 66 | 283 |
| 2 | 70.2 | 70 | 67 | 60 | 267.2 |
| 3 | 71.3 | 72 | 70 | 66 | 279.3 |
| 4 | 73 | 66 | 52 | 55 | 246 |
| 5 | 72.8 | 70 | 68 | 69 | 279.8 |
| 6 | 70 | 64 | 57 | 49 | 240 |
| Total | 432.3 | 415 | 383 | 365 | 1595.3 |
| Rata-rata | 72.05 | 69.166 | 63.833 | 60.833 | |

$$FK = \frac{(1595)^2}{24}$$

$$= 106041$$

$$JKT = (75)^2 + \dots + (49)^2 - 106041$$

$$= 1115.65$$

$$JKK = \frac{(283)^2 + \dots + (240)^2}{4} - 10604$$

$$= 433.422$$

$$JKP = \frac{(432.2)^2 + \dots + (365)^2}{6} - 106041$$

$$= 462.795$$

$$JKS = 1115.65 - 433.422 - 462.795$$

$$= 219.433$$

$$KTK = \frac{433.422}{5}$$

$$= 86.684$$

$$KTP = \frac{462.795}{3}$$

$$= 154.265$$

$$KTS = \frac{219.433}{15}$$

$$= 14.628$$

$$F \text{ hit } P = \frac{154.265}{14.682}$$

$$= 10.545$$

$$F \text{ hit } K = \frac{86.684}{14.682}$$

$$= 5.925$$

| Sumber Keragaman | Db | JK | KT | F hit | F tabel | |
|------------------|----|---------|---------|-----------|---------|------|
| | | | | | 0.05 | 0.01 |
| Perlakuan | 3 | 462.795 | 154.265 | 10.5452** | 3.29 | 5.45 |
| Kelompok | 5 | 433.422 | 86.6844 | 5.92558 | 2.9 | 4.26 |
| Sisa | 15 | 219.433 | 14.6289 | | | |
| Total | 23 | 1115.65 | | | | |

Uji Jarak Berganda Duncan Multi Range Test (DMRT)