

**PENGARUH PENAMBAHAN KAFEIN SEBELUM SEKSING
TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA KAMBING**

SKRIPSI

SRY GUSMAWATI
I 111 03 036



PERPUSTAKAAN FISKAH HASANUDDIN

Tgl. Pinjam	2 Juni 08
Pinjam oleh	Petranae
Pinjam oleh	Lily
Pinjam oleh	Petranae, Herdin
No. Pinjam	129

SKR - 1108

GUS

P

**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2008**

**PENGARUH PENAMBAHAN KAFEIN SEBELUM SEKSING
TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA KAMBING**

SKRIPSI

SRY GUSMAWATI
I 111 03 036

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana pada
Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin**

**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2008**

Judul Penelitian : Pengaruh Penambahan Kafein Sebelum Seksing Terhadap Kualitas Spermatozoa Kambing.

Bidang Studi : Reproduksi Ternak

Peneliti

Nama : Sry Gusmawati

Nomor Pokok : I 111 03 036

Jurusan : Produksi Ternak



Skripsi ini Telah Diperiksa dan Disetujui Oleh :

Pembimbing Utama

Prof. Dr. Ir. Herry Sonjaya, DEA. DES
Nip. 130 878 753

Pembimbing Anggota

Prof. Dr. Ir. Ambo Ako, M.Sc
Nip. 131 860 271

Mengetahui

Dekan Fakultas Peternakan



Prof. Dr. Ir. H. Syamsuddin Hasan, M.Sc
Nip. 130 785 064

Ketua Jurusan Produksi Ternak

Prof. Dr. Ir. Lellah Rahim, M.Sc
Nip. 131 791 250

Tanggal Lulus : 14 Mei 2008

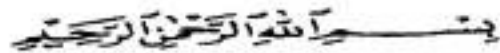
ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan kafein sebelum pemisahan spermatozoa X dan Y terhadap kualitas spermatozoa dan diharapkan dapat meningkatkan peran medium pemisah albumin telur pada proses seksing. Kegunaan dari penelitian ini adalah diharapkan dapat dijadikan sebagai bahan informasi ilmiah bahwa dengan penambahan kafein sebelum pemisahan dapat meningkatkan kualitas spermatozoa kambing hasil pemisahan kromosom X dan Y. Penelitian ini dilakukan secara eksperimental sesuai pola Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial ($2 \times 4 \times 2 \times 6$) dimana salah satu faktor adalah pengukuran berulang dengan 3 kali ulangan, dimana aktor A adalah penambahan kafein yaitu 0 mM dan 3 mM, faktor B adalah lama waktu pemisahan 0, 10, 20, 30 menit, faktor C adalah tingkat konsentrasi medium pemisah yaitu M1 : 10% dan M2 : 30%, dan faktor D adalah daya tahan hidup, selama penyimpanan pada suhu 5°C yaitu 0, 2, 4, 6, 8, dan 10 jam. Hasil evaluasi makroskopis dan mikroskopis data penelitian semen segar kambing PE menunjukkan bahwa semen segar kambing PE dapat diproses untuk perlakuan selanjutnya. Hasil analisis ragam motilitas menunjukkan adanya pengaruh sangat nyata ($P < 0.01$) pada perlakuan medium pemisah, lama penyimpanan dan interaksi antara lama penyimpanan dengan medium pemisah terhadap motilitas. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa medium, lama penyimpanan, interaksi antara medium dan level, serta interaksi lama penyimpanan dengan level kafein berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap persentase hidup spermatozoa. Hasil analisis ragam menunjukkan medium pemisah berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap panjang, lebar kepala dan eliptisitas spermatozoa dan level pada eliptisitas. Penelitian ini menyimpulkan bahwa respons persentase hidup spermatozoa Y lebih besar dibanding spermatozoa X terhadap penambahan kafein, laju penurunan motilitas spermatozoa X lebih cepat dibandingkan dengan spermatozoa Y selama penyimpanan 10 jam, penambahan kafein mengurangi laju penurunan motilitas dan persentase hidup spermatozoa kambing PE selama penyimpanan, dan medium pemisah albumin putih telur dapat mengubah proporsi alamiah spermatozoa X dan Y baik pada medium 10% maupun 30%.

ABSTRACT

The aim of this research is to evaluate the effect of caffeine addition before sperm sexing on the quality of goat sperm. The finding of this research were intended to contribute scientific information to the development of reproduction biotechnology particularly the goat breeding. The experiment design used are the Complete Randomize Design (CRD) with factorial pattern (2x4x2x6) where one factor of repeated measurement for three replication. Factor A were level of caffeine (0 and 3 mM respectively), factor B were duration of sperm sexing (0, 10, 20, and 30 minutes, respectively), factor C were concentration of medium (10 and 30% respectively), and factor D were viability during storage at 5⁰C temperature by 0, 2, 4, 6, 8 and 10 hour respectively of storage. Macroscopic and microscopic evaluation shows that, all of the semen used on the experiment could be continued to the next evaluation. The analysis of variance shows that medium, storage time, and its interaction significantly affect ($P<0,01$) on the motility of goat spermatozoa. Medium, storage time, interaction of medium and level of caffeine, as well interaction of storage time and level of caffeine have significant effect ($P<0,05$) on the viability of spermatozoa, therefore, medium significantly affect ($P<0,01$) on the length, width, and ellipticity as well as level of caffeine on the ellipticity of the head of spermatozoa. The response of viability the Y sperm was more than X sperm but the rate of motility of X sperm decline more than Y sperm during 10 h storage. Its concluded that addition of the caffeine could reduced of the rate of the declining of the motility and viability of the spermatozoa during storage. Egg albumen as medium of sexing could change the natural proportion both of X and Y spermatozoa on the concentration of 10% or 30%.

KATA PENGANTAR



Assalamu Alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Sesungguhnya setiap daya upaya yang dibarengi dengan ketekunan dan kesabaran pasti akan membawa hasil yang maksimal.

Alhamdulillah Rabbil ‘ Alamin, tiada kata yang paling mulia diucapkan dan syukur penulis kehadiran Allah SWT, atas segala limpahan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini.

Penulis menghanturkan ucapan terima kasih kepada:

1. **Bapak Prof. Dr. Ir. Herry Sonjaya, DEA, DES dan Bapak Prof. Dr. Ir. Ambo Ako, M.Sc** selaku pembimbing yang telah memberikan bimbingan baik moril maupun materil selama penelitian hingga penyusunan skripsi ini terselesaikan.
2. Dekan, pembantu Dekan I, II, III Fakultas Peternakan, Ketua Jurusan Produksi Ternak serta seluruh Staf Pegawai Fakultas Peternakan dan Jurusan Produksi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin.
3. **Bapak Dr. Ir. Wempie Pakiding, M.Sc** selaku Penasehat Akademik atas bimbingannya kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan studi.
4. Buat keluargaku tercinta (**Orang tua ku, T’bj Tina, T’thia, T’bunga, nenekku Hj. Malleng, Om. H. Kasim, alm. Om Yaris, , Kakek-Nenekku (H.Saleh-Hj.Sitti), T’Sandra dan seluruh keluarga besarku yang tak tersebutkan namanya,** terima kasih atas kasih sayang dan jerih payah dalam membesarkan

dan mendidik ananda, atas setiap untaian doa dan nasehatnya yang tidak pernah lepas dari setiap langkah ananda dalam mencapai cita-cita.

5. **K'Hasbi sek.** Makasih telah membantu mulai seminar jurusan hingga penyelesaian skripsi ini.
6. **Opukyat makasi** atas segala waktunya yang dengan setia selalu menemani dan membantu selama ini makasih sayang eeeee.
7. Saudaraku, sahabatku, yang kadang juga musuhku **Tini**, makasi atas kekompakan dan kerjasamanya selama penelitian hingga selesainya skripsi ini, **inri** makasi atas kekompakannya, **ayu n nelly** tetap 'smangat' kutunggu kabar kesuksesan kalian.
8. Teman-teman mahasiswa (i) Fakultas Peternakan khususnya Jurusan Produksi ternak Angkatan 2003 (**SPIDER'03**) **odhe, uni, icha, n'dang, ria, tuti, emi, uchi, imel, tina, imah, ince, Pipit, Irma, eka, zhul, yoga, abbas, sira, rahman, barto, kaf'fi, ujang, ullah, ahmat, palli, illang, afif, dayat, jo2h, ai, sule, opi, babe, herman, dan semua keluarga besar spider yang tak tersebutkan namanya** terima kasih yang tak terhingga atas dukungan moril dan selalu memberi semangat dan dorongan.

Akhirul qalam, terlepas dari segala kekurangan yang ada semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat dan tambahan pengetahuan dalam perkembangan ilmu Peternakan baik bagi penulis maupun bagi para pembaca.

Makassar, Mei 2008

Sry Gusmawati

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
ABSTRAK	iii
ABSTRACT	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
PENDAHULUAN	1
TINJAUAN PUSTAKA	
a. Penampungan Semen.....	3
b. Penilaian Semen	4
c. Pemisahan Spermatozoa X dan Y	7
d. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Kualitas Semen	9
e. Peranan Kafein dalam Pengencer	11
f. Pengenceran Semen	12
g. Pengukuran Kepala Spermatozoa	14

METODE PENELITIAN	15
Waktu dan Tempat Penelitian	15
Materi Penelitian	15
Prosedur Penelitian.....	15
1. Penampungan Semen	16
2. Pembuatan Larutan Pengencer	16
3. Pembuatan Media Pemisah	16
4. Penambahan Kafein	16
5. Pemisahan Spermatozoa	16
6. Parameter Yang Diukur	17
Analisa Data	18
HASIL DAN PEMBAHASAN	20
a. Karakteristik Semen Segar Kambing PE	20
b. Motilitas Spermatozoa	22
c. Persentase Hidup Spermatozoa	24
d. Ukuran Kepala Spermatozoa X dan Y Hasil Seksing	27
KESIMPULAN DAN SARAN.....	30
DAFTAR PUSTAKA	31
LAMPIRAN	33

DAFTAR GAMBAR

No	<u>Teks</u>	Halaman
1.	Alur Penelitian	19
2.	Interaksi Lama Penyimpanan Dengan Medium Pemisah Terhadap Motilitas Spermatozoa	23
3.	Interaksi Medium Pemisah Dengan Penambahan Level Kafein Terhadap Persentase Hidup Spermatozoa	25
4.	Interaksi Lama Penyimpanan Dengan Penambahan Kafein Terhadap Persentase Hidup Spermatozoa	26



DAFTAR TABEL

No	<u>Teks</u>	Halaman
1.	Karakteristik Semen Segar Kambing PE yang Digunakan Pada Penelitian	20
2.	Proporsi Rasio Spermatozoa X dan Y Pada Medium 10% dan 30%	28

DAFTAR LAMPIRAN

No	<u>Teks</u>	Halaman
1.	Data Motilitas Spermatozoa X dan Y Tanpa Kafein dan Dengan Penambahan Kafein.....	34
2.	Data Persentase Hidup Spermatozoa X dan Y Tanpa Kafein dan Dengan Penambahan Kafein.....	36
3.	Data Panjang, Lebar, dan Elipticitas Kepala Spermatozoa X Dan Y Tanpa Kafein dan Dengan Penambahan Kafein	38
4.	Data Semen Segar Kambing PE Hasil Penelitian Pada 3 Kali Penampungan	39
5.	Hasil Analisis Ragam Pengaruh Penambahan Kafein terhadap Motilitas Spermatozoa X dan Y.....	39
6.	Hasil Analisis Ragam Pengaruh Penambahan Kafein Pada Faktor Penyimpanan Untuk Pengukuran Berulang Terhadap Motilitas Spermatozoa	40
7.	Rataan Motilitas Spermatozoa X Dan Y	41
8.	Rataan Motilitas Spermatozoa Tanpa Kafein Dan Dengan Penambahan Kafein Pada Lama Pengamata	41
9.	Rataan Penurunan Motilitas Spermatozoa Selama Penyimpanan ..	41
10.	Rataan Motilitas Spermatozoa X Dan Y pada Lama Pengamatan ...	42
11.	Rataan Motilitas Spermatozoa Tanpa kafein Dan Dengan Penambahan Kafein Selama Penyimpanan	42
12.	Hasil Analisis Ragam Pengaruh Penambahan Kafein Terhadap Persentase Hidup Spermatozoa X Dan Y.....	42
13.	Hasil Analisa Ragam Pengaruh Penambahan Kafein Pada Faktor Penyimpanan Untuk Pengukuran Berulang Terhadap Persentase Hidup Spermatozoa	43

14. Rataan Persentase Hidup Spermatozoa X Dan Y	44
15. Rataan Penurunan Persentase Hidup Spermatozoa Selama Penyimpanan	44
16. Rataan Persentase Hidup Spermatozoa X Dan Y Selama Penyimpanan	45
17. Hasil Analisis Ragam Panjang Kepala Spermatozoa X Dan Y.....	45
18. Rataan Panjang Kepala Spermatozoa X Dan Y	45
19. Hasil Analisis Ragam Lebar Kepala Spermatozoa X dan Y	46
20. Rataan Lebar Kepala Spermatozoa X dan Y	46
21. Rataan Lebar Kepala Spermatozoa Tanpa Penambahan Kafein Dan Dengan Penambahan Kafein	46
22. Hasil Analisis Ragam Ellipticitas Spermatozoa X Dan Y	47
23. Rataan Elipticitas Spermatozoa X Dan Y	47
24. Rataan Elipticitas Spermatozoa Tanpa Penambahan Kafein Dan Dengan Penambahan Kafein	47
25. Gambar Pengukuran Panjang Kepala Spermatozoa Dengan Penggunaan Mikroskop 40 x 10.....	48
26. Gambar Pengukuran Lebar Kepala Spermatozoa Dengan Penggunaan Mikroskop 40 x 10.....	48
27. Rumus Konsentrasi Kafein	49

PENDAHULUAN

Aspek reproduksi khususnya inseminasi buatan pada ternak kambing merupakan salah satu aspek dalam bioteknologi peternakan yang saat ini sedang dikembangkan. Hal ini merupakan pemanfaatan bioteknologi dalam rangka meningkatkan mutu dan populasi ternak kambing. Penerapan bioteknologi inseminasi buatan akan memiliki nilai tambah jika didukung oleh pengembangan bioteknologi reproduksi dalam hal ini pemisahan sperma pembawa kromosom X dan Y, sehingga diharapkan dapat memprediksi jenis kelamin anak yang akan dihasilkan.

Pemisahan spermatozoa dengan menggunakan beberapa metode dan penggunaan beberapa jenis medium pemisah telah banyak diterapkan, dan jenis medium tersebut dapat berfungsi efektif terhadap upaya mengubah rasio alamiah spermatozoa X dan Y serta mudah diperoleh dan terjangkau, namun seringkali mengalami kendala yaitu penurunan cAMP yang berdampak pada peningkatan kematian dan motilitas spermatozoa kambing setelah pemisahan (Julmiati, Gazi, Akhnaniyanti, Basri dan Kahar, 2002). Salah satu cara untuk mengatasi hal tersebut, maka perlu ditambahkan suatu zat yang dapat menurunkan persentase kematian jumlah spermatozoa dan dapat mempertahankan motilitas spermatozoa. Dengan penambahan kafein (1,3,7-trimetil-3,7-dihidropurin) pada larutan pengencer diharapkan dapat menghambat siklus nukleotida fosfodiesterase yang bertanggungjawab atas penurunan cAMP, karena itu kafein dapat mempengaruhi kandungan level intraseluler dari siklus AMP yang terlibat dalam motilitas spermatozoa pejantan yang diobservasi (El-Gaafaryet, Daader and Ziedan, 1990).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan kafein sebelum pemisahan spermatozoa X dan Y terhadap kualitas semen.

Kegunaan dari penelitian ini adalah diharapkan dapat dijadikan sebagai bahan informasi ilmiah bahwa dengan penambahan kafein sebelum pemisahan dapat memperpendek waktu yang dibutuhkan dalam proses pemisahan, meningkatkan proporsi kromosom X dan Y dapat meningkatkan kualitas semen cair kambing hasil pemisahan kromosom X dan Y.


TINJAUAN PUSTAKA

A. Penampungan semen

Perlakuan dan penilaian pejantan perlu dilaksanakan sebelum dan selama penampungan untuk menilai pejantan penghasil semen terbaik. Pejantan yang akan ditampung harus dibersihkan dari kotoran-kotoran untuk menjaga kebersihan air mani, cukup ransangan seksual sebelum pejantan ditampung, menjaga kelestarian nafsu kawin (dengan menukar hewan betina pemancing), menjaga suasana lingkungan serta menghindari tindakan-tindakan kasar dan rambut panjang pada preputium harus dipotong (Salisbury dan Vandemark, 1985).

Penampungan semen adalah proses ejakulasi semen yang dipengaruhi oleh beberapa faktor internal dan eksternal. Faktor internal antara lain hormonal, metabolisme, keturunan, makanan, umur dan kesehatan dari pejantan tersebut. Faktor eksternal antara lain suasana lingkungan, tempat penampungan, manajemen, para penampung, cuaca, sarana penampungan dan hewan pemancing (Anonim, 2002).

Ada berbagai metode penampungan semen, dan salah satunya adalah dengan memakai vagina buatan yang sangat populer dan kini dipakai secara meluas dipusat-pusat inseminasi buatan. Pejantan dibiarkan menaiki betina pemancing dan berejakulasi sewaktu penis diarahkan dan memasuki vagina buatan. Pemakaian vagina buatan merupakan simulasi yang sempurna terhadap perkawinan secara alam semen tertampung dalam kualitas yang lebih baik daripada metode lainnya (Toelihere dan Yusuf, 1993)



Sesudah vagina buatan terpasang, kantong air diisi air panas dengan temperatur yang sesuai dan selongsong bagian dalam diberi pelican. Suhu vagina buatan pada waktu penampungan semen berkisar antara 42°-44°C (Salisbury dan Vandemark, 1985), dan untuk mencapai suhu tersebut, sebaiknya dipakai air hangat yang bersuhu antara 50-55°C (Sumbung, dkk, 1997 ; Toelihere dan Yusuf, 1993). Untuk mencegah kontak dengan matahari, maka tabung penampung pada vagina buatan ditutup atau dibalut dengan kertas atau kain (Toelihere dan Yusuf, 1993).

B. Penilaian Semen

Penilaian semen segar dilakukan setelah penampungan, baik secara makroskopik (volume, warna, pH dan konsistensi) dan mikroskopik (motilitas, persentase hidup, konsentrasi dan morfologi spermatozoa). Pengamatan ini penting untuk melakukan perlakuan selanjutnya (Salisbury dan Vandemark, 1985).

Volume. Volume semen yang disemprotkan oleh pejantan dapat berbeda-beda menurut umur pejantan, ras hewan, besar dan beratnya. Penurunan volume semen yang diejakulasikan umumnya tidak berhubungan dengan fertilitas atau sterilisasi pejantan, kecuali jika tidak terjadi ejakulasi (Toelihere dan Yusuf, 1993). Volume ejakulat dari semen kambing yang umumnya di daerah tropis adalah 0,5-1,0 ml, jumlah sperma per ejakulat 18×10^8 sampai 40×10^8 (Devendra dan M. Burns, 1994).

Derajat Keasaman (pH). Derajat keasaman dapat diukur dengan pH meter atau kertas lakmus. Derajat keasaman pada semen normal kambing 6-7, ($7,01 \pm 0,02$) (Soenardjo, 1985).

Air mani yang berkualitas baik, biasanya lebih kearah asam (pH) rendah daripada air mani dengan konsentrasi spermatozoa yang rendah. Air mani yang berkualitas jelek, megandung cairan yang banyak jumlahnya berasal dari urethralis dan kelenjar pelengkap (Salisbury dan Vandemark, 1985)

Warna. Warna semen yang dihasilkan yaitu warna krem keputih-putihan, jika berwarna hijau kekuning-kuningan artinya mengandung kuman *Pseudomonas auriginosa*, semen yang berwarna merah berarti mengandung darah dan semen yang berwarna coklat berarti semen tertserbut mengandung darah yang telah busuk (Partodihardjo, 1992).

Konsistensi. Konsistensi atau derajat kekentalan dapat diperiksa dengan menggoyangkan tabung yang berisi semen secara perlahan-lahan. Semen dengan konsistensi krem mempunyai konsentrasi 1000-2000 juta atau lebih per ml. Semen yang baik derajat kekentalannya hampir sama atau sedikit lebih kental dari susu, yang jelek, baik warna maupun kekentalannya sama dengan air kelapa (Toelihere dan Yusuf, 1993 ; Partodihardjo, 1992).

Motilitas. Motilitas atau daya gerak spermatozoa yang dinilai segera setelah penampungan semen umumnya dapat digunakan sebagai ukuran kesanggupan membuahi sel telur (Toelihere dan Yusuf, 1993), selanjutnya dikatakan bahwa untuk memperoleh hasil yang lebih tepat , sebaiknya semen diperiksa pada suhu 37-40°C. Lebih lanjut dikemukakan oleh Bearden and Fuquay

(1984) volume ejakulat 0,75-1,2 ml, pH 5,9-7,3, konsentrasi 1500-3000 juta/ml, motilitas 60-80%, spermatozoa normal 90%, spermatozoa abnormal 8-10% atau lebih dari 25%.

Dalam penentuan penilaian semen, khususnya terhadap gerakan massa ditetapkan suatu kriteria sebagai berikut :

- 0 : Tidak ada gerakan sperma maupun gerakan gelombang
- 1 : Terlihat gerakan beberapa sperma tetapi tidak ada gelombang
- 1+ : Terlihat gerak gelombang lemah (hampir tidak terlihat)
- 2 : Terlihat gerak gelombang tipis
- 2+ : Terlihat gelombang sedang tipis
- 3 : Terlihat gelombang cepat seperti awan abu-abu
- 3+ : Terlihat gelombang tebal hitam abu-abu dan cepat sekali.

Gerakan massa yang bernilai 2 sampai 3 yang dapat diproses untuk perlakuan selanjutnya (Anonim, 1992).

Untuk gerakan individu sperma ditetapkan suatu kriteria sebagai berikut :

- 0 : Tidak ada gerakan
- 1 : Gerakan di tempat
- 2 : Gerakan lamban
- 3 : Gerakan cepat
- 4 : Gerakan sangat cepat (Anonim, 1992).

Konsentrasi. Semen dengan konsistensi krem mempunyai konsentrasi 1000-2000 juta per ml. Konsistensi seperti susu encer memiliki konsentrasi 500-600 juta per ml. Semen cair yang berawan atau sedikit kekeruhan konsentrasinya

sekitar 100 juta per ml dan yang jernih seperti air kurang 50 juta per ml (Toelihere dan Yusuf, 1993).

Persentase hidup. Penentuan persentase hidup sperma dapat dilakukan dengan pewarnaan diferensiasi dengan menggunakan pewarna eosin dan sel sperma yang mati akan menghisap warna sehingga kepalanya akan berwarna merah sedangkan sperma yang hidup, tidak atau sedikit sekali menghisap warna (Toelihere dan Yusuf, 1993).

C. Pemisahan Spermatozoa X dan Y

Pejantan pada mamalia menentukan jenis kelamin anak yang di lahirkan. Proses spermatogenesis terjadi di dalam *tubulus seminiferous testis*, di mana akhir pembelahan reduksi dihasilkan spermatozoa yang hanya mengandung setengah jumlah DNA dari sel-sel somatik dan terbentuklah dua macam spermatozoa. Spermatozoa yang mengandung kromosom X jika terjadi *fertilisasi* akan menghasilkan embrio betina, sedangkan spermatozoa yang mengandung kromosom Y akan menghasilkan embrio jantan, karena pada kromosom Y terdapat *sex determining region Y gen* (SRY) yang menentukan terbentuknya testis pada hewan jantan (Graves, 1994).

Hafez (2000) menjelaskan bahwa pemisahan spermatozoa pembawa kromosom X dan Y dapat dilakukan berdasarkan adanya perbedaan kandungan kromatin, dimana spermatozoa X mengandung kromatin lebih banyak pada kepalanya dibanding kepala spermatozoa Y. Hal ini berdampak terhadap ukuran kepala spermatozoa X lebih besar dari pada spermatozoa Y, sehingga spermatozoa Y lebih cepat dan banyak bergerak.

Faktor lain yang membedakan spermatozoa pembawa kromosom X dan Y adalah ukuran panjang kromosom Y adalah 2,35 kali lebih pendek dari kromosom X dan kandungan DNA spermatozoa berkorelasi positif dengan massa bagian kepala spermatozoa. Kandungan DNA spermatozoa Y adalah 2,78% lebih rendah dari spermatozoa X, walaupun spermatozoa Y mempunyai ukuran yang lebih kecil karena mengandung lebih sedikit DNA dibandingkan dengan spermatozoa X, tetapi mempunyai gerakan yang lebih cepat (Saili, Toelihere, Boediono dan Tappa, 1998).

Atas dasar perbedaan tersebut maka seksing spermatozoa dapat dilakukan dengan berbagai macam cara. Isnaini (1994) mengemukakan bahwa pemisahan spermatozoa X dan Y, dapat dilakukan dengan cara dan bahan yang bermacam-macam dengan berbagai macam metode diantaranya filtrasi sefadex, gradient konsentrasi putih telur, menggunakan alat flow cytometer, menggunakan larutan Bovine Serum Albumin (BSA) dan sentrifugasi gradient densitas percoll.

Pemisahan dengan menggunakan albumen merupakan metode yang cukup fleksibel dan mudah diterapkan dilapangan. Prinsip dari metode ini adalah membuat medium yang berbeda konsentrasinya, sehingga spermatozoa yang mempunyai motilitas tinggi (Y) akan mampu menembus konsentrasi yang lebih pekat, sedangkan spermatozoa X akan tetap berada pada medium yang mempunyai konsentrasi rendah. Selain itu medium ini juga dapat berfungsi efektif terhadap upaya pengubahan rasio alamiah spermatozoa X dan Y (Susilawati, dkk, 2002).

Komponen pokok yang terkandung dalam putih telur ayam ras terdiri dari air 87,8-87,9%, protein 10-10,6%, lemak 0,05-0,9%, abu 0,8-0,9%, glukosa 0,4% dan garam 0,3% (Buckle, 1987 dan Rasyaf, 1995).

Pada albumin terdapat zat yang disebut *lysozyme* yang merupakan senyawa protein yang mengandung antibiotika yang dapat menghancurkan beberapa bakteri dalam hal ini zat yang dapat membunuh spermatozoa yang telah dipisahkan (Pancahastana 1999).

D. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Kualitas Semen

Makanan. Makanan merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi kinerja reproduksi ternak jantan maupun betina. Kurangnya nilai gizi makanan seperti vitamin A dan mineral sangat mempengaruhi aktivitas seksual. Kurangnya makanan pada ternak jantan dapat terjadi pengurangan berat testes, konsentrasi dan jumlah spermatozoa yang diejakulasikan (Hafez, 2000).

Lingkungan. Suhu lingkungan yang terlalu rendah atau terlampau tinggi dapat mempengaruhi reproduksi hewan jantan. Fungsi thermoregulatoris scrotum dapat terganggu dengan akibat-akibat buruk terhadap spermatogenesis. Peningkatan suhu udara karena kelembaban yang tinggi dapat menyebabkan kegagalan pembentukan dan penurunan produksi spermatozoa (Toelihere dan Yusuf, 1993).

Penyakit. Penyakit-penyakit umum maupun lokal, kronik atau akut, menular atau tidak menular dapat mempengaruhi produksi kualitas dan kuantitas semen secara langsung dan tidak langsung. Peninggian suhu badan (demam) dapat menyebabkan hilangnya kepala spermatozoa (Toelihere, 1985).

Frekuensi Ejakulasi. Frekuensi ejakulasi yang terlalu sering dalam satuan waktu yang relative pendek cenderung menurunkan libido, volume semen dan jumlah spermatozoa per ejakulasi. Pemakaian pejantan yang terlalu sering dan terus-menerus menurunkan jumlah semen dan konsentrasi spermatozoa (Toelihere dan Yusuf, 1993).

Rata-rata penampungan semen dalam seminggu untuk mempertahankan libido dan kualitas semen yang baik adalah 20 ejakulasi dan 20 milyar spermatozoa untuk domba/kambing (Davendra dan Burns, 1994).

Penampungan Semen. Salah satu faktor yang mempengaruhi kualitas semen adalah proses penampungan. Pejantan yang akan ditampung semennya harus dibersihkan dahulu dari kotoran-kotoran untuk menjaga kebersihan air mani, cukup rangsangan seksual sebelum pejantan ditampung, menjaga kelestarian nafsu kawin, menjaga suasana lingkungan serta menghindari tindakan-tindakan kasar dan rambut panjang pada preputium harus dipotong (Salisbury dan Vendemark, 1985).

Umur. Spermatogenesis dimulai sewaktu hewan mencapai masa pubertas yaitu pada umur 7 sampai 8 bulan pada kambing/domba. Walaupun perkawinan yang fertil dapat terjadi pada waktu pubertas, testes terus berkembang dan menghasilkan lebih banyak sperma; sudah menjadi kebiasaan untuk membatasi pemakaian pejantan muda. Spermatogenesis secara normal akan terus berlangsung selama hidup hewan sampai di mana mulai terjadi *atrophy* dari tubuli dan hanya sedikit yang menghasilkan sperma (Toelihere, 1985).

E. Peranan Kafein dalam Pengencer

Berbagai substansi seperti serum, cairan peritoneal, cairan folikel atau substansi farmakologi seperti progesterone, adenosine dan methylxanthin telah digunakan untuk menstimulasi fungsi dari sperma (Henkel and Schill, 2003). Stimulasi fungsi spermatozoa seperti meningkatkan motilitas telah diaplikasikan dengan menggunakan senyawa methylxanthin, salah satu derivatnya adalah kafein.

Kafein dengan nama kimia *1,3,7-trimetil- 3,7 – dihidropurin* ($C_8H_{10}N_4O_2$), memiliki bentuk seperti bubuk, tidak berbau, dapat larut dalam air dan alkohol, yang diperoleh dari kopi, teh, dan kacang mente. Pada mamalia kafein dapat merangsang system saraf pusat khususnya serebrum, kafein juga digunakan untuk merangsang motilitas semen (Dorland, 1996).

Pada beberapa penelitian yang lain melaporkan bahwa kafein juga mampu mempengaruhi motilitas pada spermatozoa yang tidak motil, seperti yang terdapat pada testes, sehubungan kafein bertindak sebagai penghambat siklus nukleotida fosfodiesterase. Oleh karena itu kafein mempengaruhi level intraseluler dan siklus AMP yang terlibat dalam motilitas spermatozoa pejantan yang diobservasi. Namun pemberian dalam konsentrasi yang tinggi akan berpengaruh negatif terhadap motilitas sperma (El-Gaafary et al 1990). Oleh sebab itu pemberian kafein menyebabkan meningkatnya konsentrasi yang lebih tinggi efeknya dapat merusak parameter reproduksi (Lopes and Alvarino 2000) menurut (Dewi, 2005) yang menyatakan bahwa motilitas spermatozoa kambing Boor selama enam hari penyimpanan yang diberikan level kafein 2 mM/ml terlihat lebih tinggi dibandingkan level 3 dan 4 mM/ml. (Susilawati dkk, 1999) menyatakan bahwa

kafein juga dapat ditambahkan kedalam fertilitas invitro sebab kafein dan heparin bekerja secara sinergis mempercepat kapasitas dan reaksi akrosom.

F. Pengenceran semen

Pengenceran semen akan meningkatkan volume semen sehingga memungkinkan lebih banyak ternak betina yang dapat di inseminasi dalam sekali penampungan semen saat ejakulasi pada ternak jantan (Toelihere dan Yusuf, 1993).

Susilawati (2003) menyatakan bahwa spermatozoa tidak dapat bertahan hidup untuk waktu yang lama kecuali bila ditambahkan berbagai unsur kedalam semen. Unsur-unsur ini yang membentuk suatu pengencer yang baik dan berfungsi sebagai :

1. Menyediakan zat-zat makanan sebagai sumber energi bagi spermatozoa misalnya fruktosa dan glukosa.
2. Melindungi spermatozoa terhadap *cold shock*
3. Menyediakan suatu penyanggah untuk menyanggah perubahan pH akibat pembentukan asam laktat dari hasil metabolisme spermatozoa.
4. Mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit yang sesuai.
5. Mencegah pertumbuhan kuman.
6. Memperbanyak volume semen.

Suatu pengencer yang baik seyogyanya memenuhi syarat-syarat berikut :

1. Bahan pengencer hendaknya murah, sederhana dan praktis dibuat, tetapi mempunyai daya prevasi yang tinggi.

2. Pengencer harus mengandung unsur-unsur yang hampir sama sifat fisik dan kimiawi dengan semen dan tidak boleh mengandung zat-zat yang toksik atau bersifat racun baik terhadap sperma maupun terhadap saluran kelamin ternak betina.
3. Pengencer harus tetap mempertahankan dan tidak membatasi daya fertilisasi sperma. Pengencer tidak boleh terlalu kental sehingga menghalangi pertemuan antara sperma dan ovum dan menghambat fertilisasi.
4. Pengencer harus memberi kemungkinan penilaian sperma sesudah pengenceran. Sebaiknya sesudah pengenceran, pergerakan sperma masih dapat dilihat dengan mudah agar dapat ditentukan nilai semen tersebut (Toelihere, 1993).

Semen kambing yang akan diencerkan dengan menggunakan bahan pengencer dari kuning telur perlu dicuci terlebih dahulu, karena enzim *phosfolidase* yang disekresikan oleh kelenjar vesikularis (*Bulbourethral*) akan menjadi katalisator dalam reaksi hidrolisis *lesithin* dan *isolesithin* dalam kuning telur yang menghasilkan asam lemak dan akan menjadi racun bagi sperma. Pengenceran sperma dengan kuning telur setelah pencucian semen, *lipoprotein* dan *lesithin* yang terkandung dalam kuning telur tidak berakibat buruk lagi selama penyimpanan pada suhu 0,5-5⁰C (Murtidjo, 1993).

G. Ukuran Kepala Spermatozoa

Ukuran kepala spermatozoa ditentukan dengan cara mengukur panjang dan bagian terlebar dari kepala spermatozoa. Rata-rata panjang kepala spermatozoa sapi $7,94 \pm 0,28 \mu\text{m}$ dan lebar kepala $4,1 \pm 0,22 \mu\text{m}$, hasil kali panjang dan lebar rata-rata adalah $32,74 \pm 2,38 \mu\text{m}$ (Susilawati dkk, 2002).

Ukuran besar kepala spermatozoa sapi, panjang kepala spermatozoa rata-rata adalah 8-10 μm , lebar kepala 4-5 μm dan besar kepala sebesar 35-40 μm (Bearden dan Fuquay (1984). Sedangkan menurut Toelihere (1993) bahwa hasil kali panjang dan lebar kepala spermatozoa kira-kira 32-45 μm .

Ukuran besar kepala spermatozoa kambing rata-rata $32,23 \pm 2,21 \mu\text{m}$. Hasil pengukuran ini digunakan sebagai dasar penentuan spermatozoa X dan Y, spermatozoa yang mempunyai ukuran lebih kecil dari ukuran kepala rata-rata adalah spermatozoa Y dan spermatozoa yang memiliki ukuran sama atau lebih besar dengan rata-rata adalah spermatozoa X (Susilawati, 2003).

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2007 hingga Januari 2008, bertempat di Laboratorium Fisiologi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin, Makassar.

Materi Penelitian

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah vagina buatan, tabung reaksi, gelas ukur, pipet volume, pipet transferpette, sentrifuge, thermometer, objek glass, deck glass, mikroskop, lensa mikrometer, Bunsen, labu erlenmeyer, saringan, kertas saring, tissue dan kertas label

Bahan-bahan yang digunakan adalah satu ekor kambing jantan PE umur 1,5 tahun, kambing betina birahi, semen kambing PE yang ditampung menggunakan vagina buatan, albumin telur ayam ras, alkohol, larutan pengencer (1 ml adromed + 4 ml aquades) dan kafein dengan perlakuan 0 mM dan 3 mM.

Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental sesuai pola Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial ($2 \times 4 \times 2 \times 6$) dimana salah satu faktor adalah pengukuran berulang dengan 3 kali ulangan (Gaspersz, 1991), dimana faktor A adalah penambahan kafein yaitu 0 mM dan 3 mM, faktor B adalah lama waktu pemisahan 0, 10, 20, 30 menit, faktor C adalah tingkat konsentrasi medium pemisah yaitu M1 : 10% dan M2 : 30%, dan faktor D adalah daya tahan hidup, selama penyimpanan pada suhu 5°C yaitu 0, 2, 4, 6, 8, dan 10 jam.

Prosedur penelitian yang akan dilakukan terdiri atas beberapa tahap sebagaimana yang ditunjukkan pada Gambar 1.

1. Penampungan Semen

Tahap ini diawali dengan penampungan semen dengan menggunakan vagina buatan, kemudian semen yang diperoleh dilakukan uji makroskopis (warna, pH, volume dan konsistensi) dan uji mikroskopis (gerakan massa, gerakan individu dan konsentrasi sperma).

2. Pembuatan Larutan Pengencer

1 ml andromed di larutkan ke dalam 4 ml aquades pada suhu 37°C.

3. Pembuatan Media Pemisah

Media pemisah dengan konsentrasi 30% dibuat dengan cara menambahkan albumin telur sebanyak 30 ml ke dalam larutan NaCl 0,9% sebanyak 70 ml, sedangkan media pemisah dengan konsentrasi 10% dibuat dengan cara menambahkan albumin telur sebanyak 10 ml ke larutan NaCl 0,9% sebanyak 90ml.

4. Penambahan Kafein

Bubuk kafein 0,6367 gram dilarutkan dengan aquades sebanyak 1000 ml (Lampiran 27).

5. Pemisahan Spermatozoa

Sampel semen yang telah dievaluasi kemudian diencerkan dengan andromed (1 semen : 4 pengencer) dan setiap pengencer disuplementasikan dengan kafein. Sampel semen sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung yang berisi medium pemisah dan dibiarkan mengendap selama 0, 10, 20 dan 30 menit

pada suhu kamar. Berdasarkan medium pemisah setiap fraksi semen disedot dengan menggunakan pipet dan ditampung dalam tabung sentrifuge, kemudian disentrifuge dengan kecepatan 2500 rpm selama 15 menit, untuk mendapatkan endapan spermatozoa yang bersih dari medium pemisah. Endapan yang diperoleh kemudian ditambahkan larutan pengencer.

6. Parameter yang Diukur

Secara makroskopik, meliputi ;

- ❖ Warna semen
- ❖ Konsistensi semen
- ❖ pH semen
- ❖ Volume semen

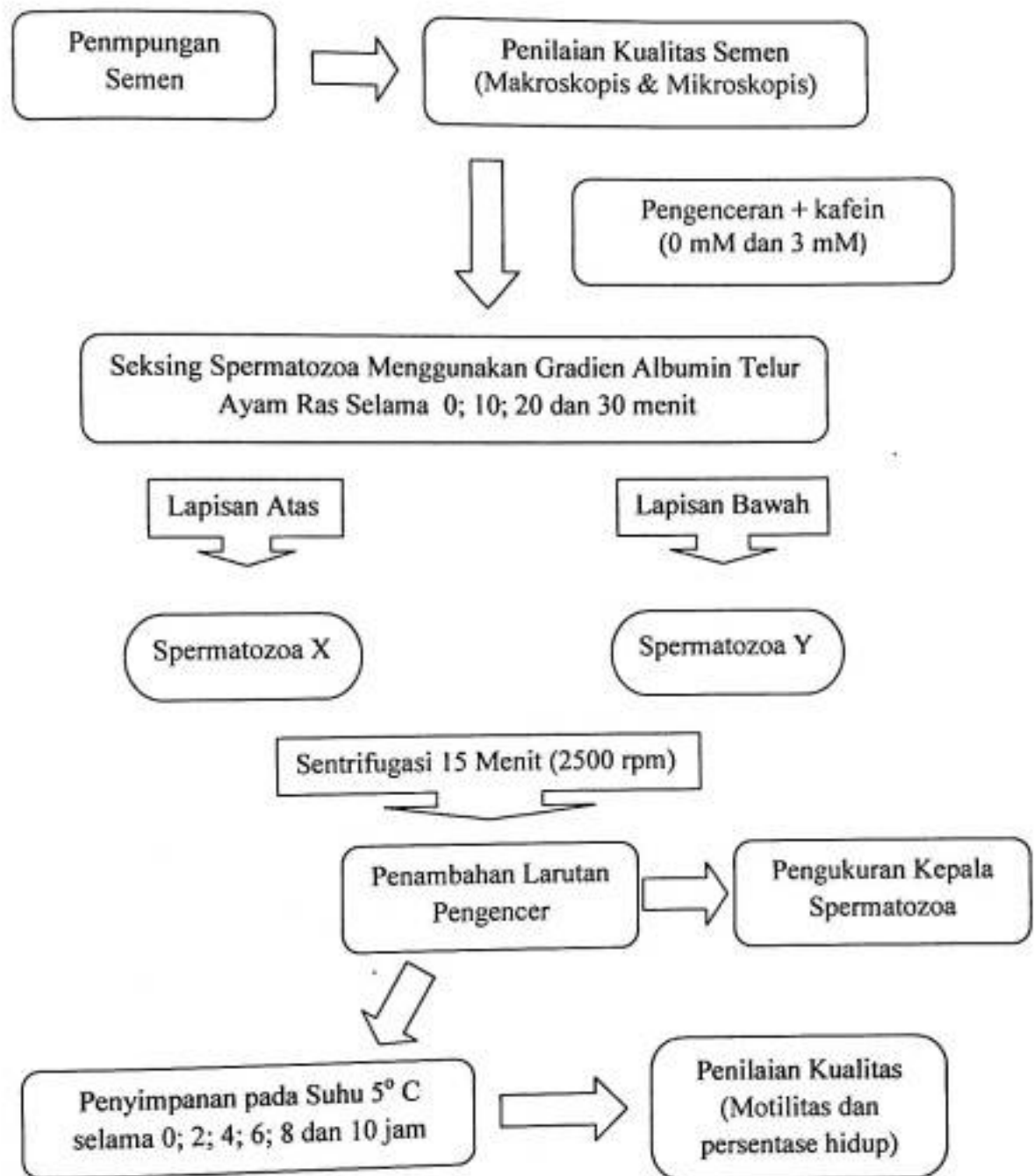
Secara mikroskopik, meliputi ;

- ❖ Gerakan massa
- ❖ Konsentrasi
- ❖ Motilitas spermatozoa. Penilaian motilitas didasari dengan mendiskripsikan teori yang dikemukakan oleh Yani, dkk (2001), di mana motilitas diukur berdasarkan persentase spermatozoa yang bergerak maju, gerak cepat, gerak lambat maupun gerak ditempat
- ❖ Persentase hidup. Persentase hidup spermatozoa diukur dengan melihat jumlah spermatozoa yang mati dan yang hidup dengan menggunakan metode pewarna eosin dan proporsi hasil pemisahan kromosom X dan Y ditentukan berdasarkan ukuran kepala sperma.

- ❖ Pengukuran Kepala Sperma. Ukuran kepala spermatozoa ditentukan dengan cara mengukur panjang dan bagian terlebar dari kepala spermatozoa (Susilawati, dkk. 2002). Penilaian untuk morfologi kepala spermatozoa antara lain panjang, lebar, dan eliptisitas (Hidalgo, dkk. 2007). Mengukur kepala spermatozoa yaitu dengan menggunakan lensa mikrometer (Lampiran 25 dan 26)

Analisis Data

Data yang diperoleh pada penelitian ini untuk motilitas dan persentase hidup tidak menyebar secara distribusi normal, maka sebelum dianalisis ditransformasi terlebih dahulu ke $\text{Arcsin } \sqrt{x}$ (Gazpersz, 1991). Selanjutnya dianalisis dengan menggunakan paket program SPSS 11,5 for windows, dan untuk motilitas dan persentase hidup dilakukan pengukuran berulang (repeated measurement)



Gambar 1. Alur Penelitian

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Karakteristik Semen Segar Kambing PE

Karakteristik semen Kambing PE yang digunakan pada penelitian disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Semen Segar Kambing PE Yang Digunakan Pada Penelitian.

Parameter	Nilai	Pustaka
Makroskopik <ul style="list-style-type: none">• Warna• Konsistensi• pH• Volume (cc)	Krem Kental 6,83 0,5	Krem keputihan (Partodihardjo 1992), Kental (Toelihere dan Yusuf, 1993) 6-7 (Soenardjo, 1985) 0,5-1,0 ml (Devendra dan Burns, 1994)
Mikroskopis <ul style="list-style-type: none">• Gerakan massa• Motilitas (%)• Konsentrasi (juta/ml)• Persentase hidup (%)	3 ⁺ 78,33 464,67 x 10 ⁷ 81,09	2-3 (Anonim, 1992) 60-80% (Bearden and Fuquay, 1984) 1000-2000 juta/ml

Semen segar kambing PE pada penelitian ini berwarna krem keputihan, hal ini sesuai dengan pendapat Partodihardjo (1992) bahwa warna semen yang dihasilkan yaitu warna krem keputih-putihan, jika berwarna hijau kekuning-kuningan artinya mengandung kuman *Pseudomonas auriginosa*, semen yang berwarna merah berarti mengandung darah dan semen yang berwarna coklat berarti semen tersebut mengandung darah yang telah busuk. Konsistensi semen segar kambing PE yang digunakan pada tiga frekuensi penampungan adalah kental dengan konsentrasi rata-rata 464,67 x 10⁷ j/ml, tergolong normal, sesuai pendapat Toelihere dan Yusuf, (1993) ; Partodihardjo, (1992) yang menyatakan bahwa semen dengan konsistensi krem mempunyai konsentrasi 1000-2000 juta atau lebih per ml. Semen yang baik derajat kekentalannya hampir sama atau

sedikit lebih kental dari susu, yang jelek, baik warna maupun kekentalannya sama dengan air kelapa.

Derajat keasaman (pH) sangat menentukan status kehidupan spermatozoa dalam semen. Derajat keasaman yang diperoleh pada penelitian ini adalah 6,8 nilai ini merupakan nilai yang normal, sesuai dengan pendapat Soenardjo (1985) bahwa derajat keasaman pada semen normal kambing 6-7.

Volume semen kambing PE yang diperoleh adalah 0,5 ml yang menunjukkan bahwa volume semen kambing PE termasuk normal sesuai dengan pendapat Devendra dan Burns, (1994) bahwa volume ejakulat dari semen kambing yang umumnya di daerah tropis adalah 0,5-1,0 ml, dan jumlah sperma per ejakulat 18×10^8 sampai 40×10^8 .

Gerakan massa spermatozoa yang diperoleh pada penelitian ini adalah 3^+ dengan persentase motilitas 78,33%. Nilai ini menunjukkan gerakan massa dan persentase motilitas yang normal, sesuai dengan pendapat Anonim (1992), bahwa pada nilai 3^+ terlihat gelombang tebal hitam abu-abu dan cepat sekali dan gerakan massa yang bernilai 2 sampai 3 yang dapat diproses untuk perlakuan selanjutnya. Lebih lanjut dikemukakan oleh Bearden and Fuquay (1984) volume ejakulat 0,75-1,2 ml, pH 5,9-7,3, konsentrasi 1500-3000 juta/ml, motilitas 60-80%, spermatozoa normal 90%, spermatozoa abnormal 8-10% atau lebih dari 25%.

B. Motilitas Spermatozoa

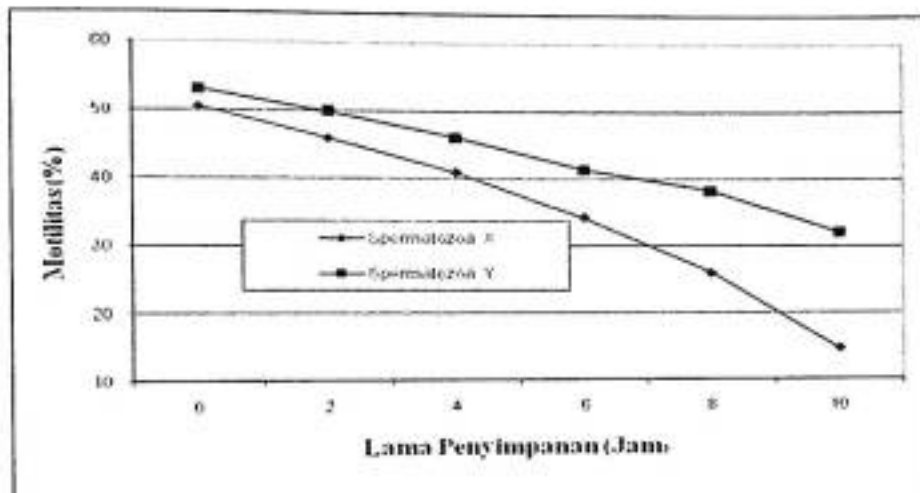
Hasil analisis ragam motilitas spermatozoa (Lampiran 5 dan 6), menunjukkan adanya pengaruh sangat nyata ($P < 0.01$) pada perlakuan medium pemisah, lama penyimpanan dan interaksi antara lama penyimpanan dengan medium pemisah terhadap motilitas, sedangkan perlakuan lainnya tidak berpengaruh nyata terhadap motilitas spermatozoa

Berpengaruh nyatanya medium terhadap motilitas spermatozoa (lampiran 7) mengindikasikan bahwa motilitas spermatozoa Y pada medium pemisah 30% mempunyai motilitas yang nyata lebih tinggi dibandingkan dengan spermatozoa X pada medium 10% (35,354 vs 43,444). Tingginya motilitas spermatozoa Y, kemungkinan dipengaruhi oleh perbedaan ukuran dan massa antara spermatozoa X dan Y, di mana spermatozoa Y mempunyai massa dan ukuran yang lebih kecil sehingga pergerakannya lebih cepat. Hal ini sesuai dengan pendapat Jaswandi (1992) bahwa massa dan ukuran spermatozoa Y yang lebih kecil dari spermatozoa X, menyebabkan spermatozoa Y tersebut mampu bergerak lebih cepat atau mempunyai daya penetrasi yang lebih tinggi untuk memasuki suatu larutan.

Berpengaruhnya lama penyimpanan terhadap motilitas spermatozoa menunjukkan bahwa setelah penyimpanan pada suhu 5°C motilitas spermatozoa semakin menurun karena selama penyimpanan energi yang tersedia dalam pengencer akan berkurang. Hal ini sesuai dengan pendapat Bearden and Fuquay (1984) bahwa motilitas spermatozoa mengalami penurunan disebabkan karena pada proses metabolisme yang terus berjalan selama penyimpanan akan

mengakibatkan energi berkurang sehingga motilitas spermatozoa semakin lama semakin menurun.

Interaksi antara lama penyimpan dengan penggunaan medium pemisah albumen telur terhadap motilitas spermatozoa dapat dilihat pada Gambar 2.

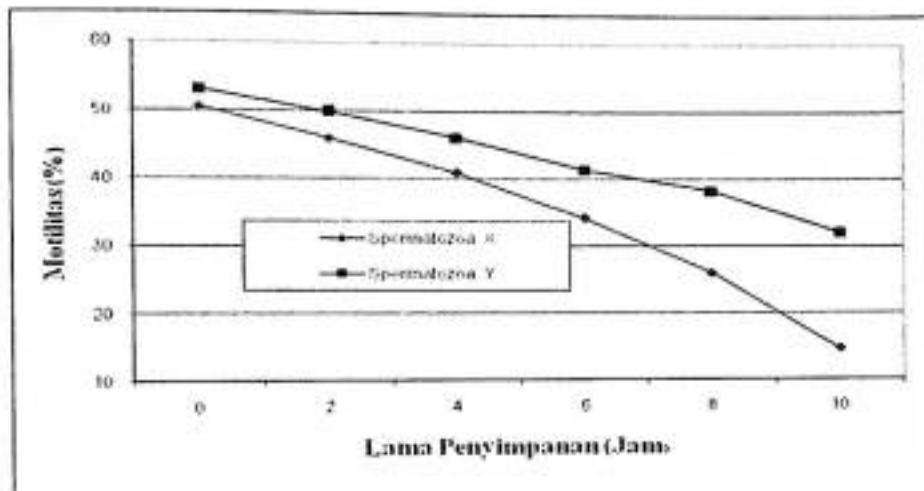


Gambar 2. Interaksi Lama Penyimpanan Dengan Medium Pemisah Terhadap Motilitas Spermatozoa .

Gambar 2 menunjukkan bahwa pola laju penurunan motilitas spermatozoa X dan Y relative sama, namun pada lama penyimpanan 6 jam spermatozoa X lebih cepat mengalami penurunan dibandingkan spermatozoa Y. Lebih cepatnya penurunan motilitas pada spermatozoa X karena memiliki ukuran yang lebih besar sehingga membutuhkan energi yang lebih besar pula, sehingga persediaan energi pada spermatozoa X untuk proses metabolisme spermatozoa selama penyimpanan dengan cepat akan terus berkurang dibanding spermatozoa Y yang memiliki persediaan energi yang lebih banyak.

mengakibatkan energi berkurang sehingga motilitas spermatozoa semakin lama semakin menurun.

Interaksi antara lama penyimpan dengan penggunaan medium pemisah albumen telur terhadap motilitas spermatozoa dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Interaksi Lama Penyimpanan Dengan Medium Pemisah Terhadap Motilitas Spermatozoa .

Gambar 2 menunjukkan bahwa pola laju penurunan motilitas spermatozoa X dan Y relative sama, namun pada lama penyimpanan 6 jam spermatozoa X lebih cepat mengalami penurunan dibandingkan spermatozoa Y. Lebih cepatnya penurunan motilitas pada spermatozoa X karena memiliki ukuran yang lebih besar sehingga membutuhkan energi yang lebih besar pula, sehingga persediaan energi pada spermatozoa X untuk proses metabolisme spermatozoa selama penyimpanan dengan cepat akan terus berkurang dibanding spermatozoa Y yang memiliki persediaan energi yang lebih banyak.

C. Persentase Hidup Spermatozoa

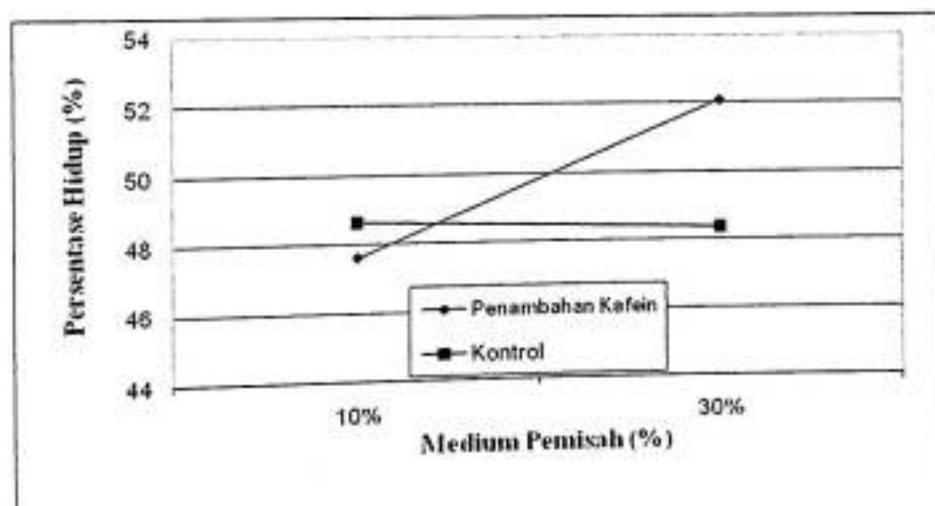
Hasil analisis ragam (Lampiran 12 dan 13) menunjukkan bahwa medium, lama penyimpanan, interaksi antara medium dan level, serta interaksi lama penyimpanan dengan level kafein berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap persentase hidup spermatozoa sedangkan perlakuan lainnya tidak menunjukkan adanya pengaruh nyata terhadap persentase hidup spermatozoa hasil pemisahan.

Berpengaruhnya medium terhadap persentase hidup (lampiran 14) menunjukkan bahwa persentase hidup spermatozoa Y pada medium 30% lebih tinggi dibanding spermatozoa X pada medium 10% (50,233 vs 48,139). Hal ini mungkin disebabkan ketersediaan energi pada setiap spermatozoa yang tidak sama sehingga mempengaruhi persentase hidup spermatozoa tersebut, selain itu proses pemisahan dan penyimpanan menyebabkan penurunan persentase hidup spermatozoa. Oleh karena itu perlu penambahan energi untuk mempertahankan kondisi fisiologisnya yang bersumber dari bahan pengencer. Hal ini sesuai dengan pendapat Susilawati (2003) yang menyatakan bahwa spermatozoa tidak dapat tahan hidup untuk waktu yang lama kecuali bila ditambahkan berbagai unsur kedalam semen yang salah satu fungsinya menyediakan zat-zat makanan sebagai sumber energi bagi spermatozoa.

Penurunan persentase hidup spermatozoa selama penyimpanan kemungkinan dipengaruhi oleh ketersediaan energi untuk mempertahankan kondisi fisiologis selama penyimpanan pada suhu 5°C . Hal ini mungkin karena kualitas pengencer yang digunakan. Selama penyimpanan kualitas pengencer akan terus menurun dan dapat mempengaruhi daya tahan hidup spermatozoa.

Menurut Susilawati, dkk. (2002) bahwa penurunan motilitas dan persentase hidup selama waktu inkubasi (0-5 jam) disebabkan oleh waktu yang semakin lama, sehingga walaupun spermatozoa sudah ditambahkan dengan bahan pengencer, tetapi lama kelamaan fungsi optimal bahan pengencer menurun dan daya gerak spermatozoa juga menurun. Suhu inkubasi akan menunjang proses metabolisme spermatozoa, sehingga persediaan energi semakin lama akan semakin berkurang yang mengakibatkan persentase hidup spermatozoa semakin lama akan semakin menurun pula.

Interaksi antara medium pemisah dengan penambahan level kafein dapat dilihat pada Gambar 3.

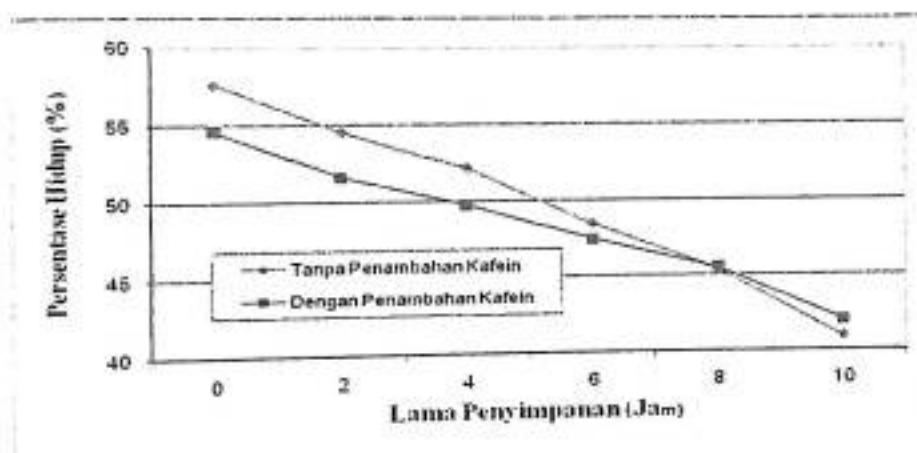


Gambar 3. Interaksi Medium Pemisah Dengan Penambahan Level Kafein Terhadap persentase hidup Spermatozoa.

Gambar 3 menunjukkan bahwa pada medium pemisah 10% baik kontrol maupun dengan penambahan kafein tidak terlalu nyata peningkatan persentase hidupnya, tetapi pada medium pemisah 30% terjadi peningkatan persentase hidup yang ditambahkan dengan kafein sebaliknya pada kontrol terjadi penurunan. Meningkatnya persentase hidup pada medium pemisah 30% (spermatozoa Y)

yang ditambahkan kafein kemungkinan pada medium 30% kandungan albuminnya tinggi sehingga banyak mengandung protein. Hal ini sesuai dengan pendapat Pancastana (1999), bahwa dalam albumen terdapat zat yang disebut *lysozyme* yang merupakan senyawa protein yang mengandung antibiotika yang dapat menghancurkan beberapa bakteri dalam hal ini zat yang dapat membunuh spermatozoa yang telah dipisahkan.

Interaksi lama penyimpanan dengan penambahan kafein dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Interaksi Lama Penyimpanan dengan Penambahan Kafein Terhadap Persentase Hidup Spermatozoa.

Gambar 4 meskipun laju penurunan persentase hidup spermatozoa selama penyimpanan relative sama, namun pada awal penyimpanan terdapat perbedaan nilai persentase hidup, sedangkan pada akhir penyimpan (10 jam) nilai persentase hidup spermatozoa relative sama. Perbedaan laju penurunan ini mungkin disebabkan adanya penambahan kafein yang dapat menghambat laju penurunan persentase hidup spermatozoa, selain itu adanya proses metabolisme menyebabkan persediaan energi semakin berkurang sehingga daya tahan hidup spermatozoa semakin lama semakin menurun.

D. Ukuran Kepala Spermatozoa X dan Y Hasil Seksing

Hasil analisis ragam (Lampiran 17, 19 dan 22) menunjukkan medium pemisah berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap panjang, lebar kepala dan eliptisitas spermatozoa dan level pada eliptisitas. Sedangkan perlakuan lainnya tidak menunjukkan adanya pengaruh nyata terhadap panjang, lebar dan eliptisitas spermatozoa.

Rataan panjang, lebar dan eliptisitas kepala spermatozoa X dan Y (Lampiran 18, 20 dan 23) menunjukkan bahwa medium pemisah dapat memisahkan spermatozoa X dan Y. Sebagian besar spermatozoa X berada pada bagian atas dan spermatozoa Y bagian bawah. Saat pengukuran, terdapat perbedaan antara panjang, lebar dan eliptisitas kepala spermatozoa X dan Y. Ini disebabkan perbedaan kandungan biokimia spermatozoa, spermatozoa X ukurannya lebih besar dan lebih berat. Hal ini sesuai dengan pendapat Hafez (2000) menjelaskan bahwa pemisahan spermatozoa pembawa kromosom X dan Y dapat dilakukan berdasarkan adanya perbedaan kandungan kromatin, dimana spermatozoa X mengandung kromatin lebih banyak pada kepalanya dibanding kepala spermatozoa Y. Hal ini berdampak terhadap ukuran kepala spermatozoa X lebih besar dari pada spermatozoa Y, sehingga spermatozoa Y lebih cepat dan banyak bergerak.

Faktor lain yang membedakan spermatozoa pembawa kromosom X dan Y adalah ukuran panjang dan kandungan DNANYa. Hal ini sesuai dengan pendapat Sali, dkk (1998) bahwa perbedaan spermatozoa pembawa kromosom X dan Y adalah ukuran panjang kromosom Y adalah 2,35 kali lebih pendek dari kromosom

X dan kandungan DNA spermatozoa berkorelasi positif dengan massa bagian kepala spermatozoa. Kandungan DNA spermatozoa Y adalah 2,78% lebih rendah dari spermatozoa X, walaupun spermatozoa Y mempunyai ukuran yang lebih kecil karena mengandung lebih sedikit DNA dibandingkan dengan spermatozoa X, tetapi mempunyai gerakan yang lebih cepat.

Spermatozoa hasil pemisahan diukur panjang dan bagian terlebar dari kepalanya sejumlah 160 spermatozoa. Spermatozoa yang memiliki panjang dan lebar kepala sama atau diatas rata-rata adalah spermatozoa X dan spermatozoa yang memiliki panjang dan lebar kepala dibawah rata-rata adalah spermatozoa Y, dan untuk melihat sampai sejauh mana ada penyimpangan dari rasio hukum Mendel (50:50% untuk spermatozoa X dan Y) maka diambil nilai secara arbitrary (pendugaan) seperti yang terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Proporsi Rasio Spermatozoa X dan Y Pada Medium 10% dan 30%.

	Panjang (%)		Lebar (%)		Elipticitas (%)	
	2,74-2,96 μm (Y)	2,99-3,18 μm (X)	1,01-1,23 μm (Y)	1,31-1,73 μm (X)	2,22-2,9 μm (Y)	1,61-2,08 μm (X)
Medium 10 %	9.52	90.47	40	60	27.27	72.73
Medium 30 %	84.21	15.79	76.19	23.81	57.89	42.11

Tabel 2 menunjukkan bahwa medium 10% proporsi spermatozoa X pada panjang dan lebar kepala spermatozoa X lebih lebih besar dibanding pada medium 30%. Hal ini menunjukkan medium pemisah dapat memisahkan spermatozoa X dan Y. Spermatozoa pada medium 10% diduga pembawa kromosom X, spermatozoa pada medium 30% diduga pembawa kromosom Y dan untuk eliptisitas nilai terkecil menunjukkan spermatozoa X sebaliknya nilai

terbesar menunjukkan spermatozoa Y. Hal ini sesuai dengan pendapat Susilawati, dkk (2002), bahwa medium pemisah yang menggunakan albumin putih telur merupakan metode yang cukup fleksibel dan mudah diterapkan dilapangan. Prinsip dari metode ini adalah membuat medium yang berbeda konsentrasinya, sehingga spermatozoa yang mempunyai motilitas tinggi (Y) akan mampu menembus konsentrasi yang lebih pekat, sedangkan spermatozoa X akan tetap berada pada medium yang mempunyai konsentrasi rendah. Selain itu medium ini juga dapat berfungsi efektif terhadap upaya perubahan rasio alamiah spermatozoa X dan Y.

Walaupun albumin putih telur dapat memisahkan proporsi alamiah spermatozoa X dan Y, namun pada medium 10% (spermatozoa X) terdapat spermatozoa Y, sebaliknya pada medium 30% (spermatozoa Y) terdapat spermatozoa X. Hal ini dapat terjadi karena kemungkinan pada medium 10% spermatozoa Y telah mengalami penurunan motilitas sehingga tidak dapat menembus medium 30% yang lebih pekat, sebaliknya pada medium 30% terdapat spermatozoa X yang kemungkinan memiliki energi yang lebih banyak sehingga motilitasnya lebih tinggi sehingga mampu menembus medium 30%.

Rataan eliptisitas kepala spermatozoa tanpa penambahan kafein dan dengan penambahan kafein (Lampiran 24) menunjukkan bahwa penambahan kafein dapat mempengaruhi eliptisitas spermatozoa. Hal ini mungkin disebabkan karena pada saat penambahan kafein ke dalam larutan pengencer, tekanan osmolaritas larutan berubah sehingga mempengaruhi eliptisitas kepala spermatozoa dan pengaruh osmolaritas ini belum diketahui.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Penambahan kafein mengurangi laju penurunan motilitas dan persentase hidup spermatozoa kambing PE selama penyimpanan.
2. Respons persentase hidup spermatozoa Y lebih besar dibandingkan dengan spermatozoa X pada penambahan kafein yang lebih tinggi
3. Laju penurunan motilitas spermatozoa X lebih cepat dibandingkan dengan spermatozoa Y selama penyimpanan 10 jam.
4. Medium pemisah albumin putih telur dapat mengubah proporsi alamiah spermatozoa X dan Y baik pada medium 10% maupun 30%.

Saran

Untuk efektifitasnya penambahan kafein sebelum seksing sperma perlu dilakukan uji fertilitas spermatozoa dan perlu diterapkan/diaplikasikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1992. *Prosedur dan Tatacara Kerja dan Distribusi Semen Beku*. Direktorat Jendral Peternakan Departemen Pertanian. BIB Lembang, Bandung.
- Bearden, H.J. and J.W. Fuquay. 1984. *Applied Animal Reproduction*. 2nd Ed. Reston Publishing Company Inc. A Prentice-Hall Company. Reston, Virginia
- Buckle, K.A., R.A. Edward, G.G. Feed dan M. Wotton. 1987. *Ilmu Pangan*. Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Devendra, C. dan M. Burns. 1994. *Produksi Kambing di Daerah Tropis*. ITB dan Universitas Udayana.
- Dewi, Sri Wastuti Yanti. 2005. *Pengaruh Penambahan Kafein Pada Level Berbeda Terhadap Peningkatan Motilitas Semen Cair Kambing Boer Hasil Seksing*. Skripsi. Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin. Makassar
- Dorland. 1996. *Kamus Kedokteran*. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- EL-Gaafary, M.N., A.d. Daader., and A. Zieden. 1990. *Effects of caffeine on bull semen quality and sperm penetration into cervical mucus*. *Anim. Reprod. Sci.*,23:13-90
- Gaspersz, V. 1991. *Metode Perancangan Percobaan*. Armico, Bandung.
- Graves, J. A. M. 1994. *Mammalian Sex Determining Genes in The Difference Between The Sex dalam RV Short and Balaban (ed)*. Cambridge University. Press : 397-418.
- Hafez, E.S.E and Hafez, B., 2000. *Reproduction in Farm Animal*. Seventh Edition. Lippincot Williams Wilkins. Baltimore Maryland. USA.
- Henkel, R.R and Schill, W.B. 2003. *Sperm preparation for ART*. *Reproductive Biology and Endocrinology*. Germany. 1 : 108
- Hidalgo, M., I. Rodriguez., J.M. Dorado. 2007. *The effect of cryopreservation on sperm head morphometry in Florida male goat related to sperm freezability*. *Animal Reproduction* 100: 61-72.
- Isnaini, N. 1994. *Pemisahan spermatozoa X dan Y pada Sapi Fries Holland dengan menggunakan gradient densitas percoll*. *Jurnal Universitas Brawijaya* Vol. 6 No. 2 : 70 - 74, <http://diglib.Brawijaya.ac.id>

- Jaswandi. 1992. Pengaruh lapisan suspensi bovine serum albumin 6 dan 10 dalam kolum untuk memisahkan sperma sapi pembawa kromosom X dan Y guna mengubah rasio seks pada pedet. Tesis Program Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Julmiati, R. Gazi, Akhnaniyanti, Basri dan Y. Kahar. 2002. Usaha Peningkatan Produksi Ternak Kambing Melalui Inseminasi Buatan (IB) dengan Spermatozoa yang diduga Pembawa Kromosom X dan Y. Program Kreativitas Mahasiswa. Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Lopez and Alvarino. 2000. Effects of added ceffeine on results following artificial insemination with fresh and refrigerated rabbit semen. Anim. Reprod. Sci 58: 147- 154.
- Murtidjo, B.A. 1993. Beternak Kambing Pedaging dan Perah. Kanisius, Jakarta.
- Pancahastana H, (1999). Upaya Merubah Sex Rasio Sperematozoa Dengan Melakukan Pemisahan Spermatozoa X dan Y Menggunakan Putih Telur Pada Sapi Bali. Skripsi. Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Partodihardjo, S. 1992. Ilmu Reproduksi Hewan. Mutiara, Jakarta.
- Rasyaf. M. 1995. Pengolahan Produksi Telur. Kanisius, Yogyakarta.
- Saili, T., Toelihere, M.R., Boediono, A., Tappa, B. 1998. Pengendalian jenis kelamin anak melalui seksing spermatozoa untuk reproduksi ternak. Warta Biotek. Vol. XII No. 1-2: 1-5.
- Salisbury, G.W., N.L. Vandemark. 1985. fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi. UGM Press, Yogyakarta.
- Soenardjo, C.H. 1985. Teknologi Penampungan, Pemeriksaan, Pengenceran dan Penyimpanan serta Evaluasi Semen pada Ternak Kambing dan Domba. Departemen Pendidikan Dan Kebudayaan. Universitas Jendral Sudirman.
- Sumbung, F.P, D. Patunru dan J.T. Batosamma. 1997. Ilmu Reproduksi Hewan. Lembaga Penerbitan Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Susilawati, T., Sutiman B., Sumitro, Socharjo H.P., Yoseph Mantra, Nuryadi. 1999. Pola kapasitas spermatozoa x dan y sapi hasil pemisahan menggunakan filtrasi sefadex dan sentrifugasi gradient densitas percoll. Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati. Volume 11:26-36.

- _____, Hermanto, P. Sianto, E. dan Yuliani. 2002. Pemisahan Spermatozoa X dan Y pada Sapi Brahman Menggunakan Gradien Putih Telur pada Pengencer Tris dan Tris Kuning Telur. *Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati* Vol. 14 No. 2 : 176-181
- _____. 2003. Penuntun dan Pengaturan Jenis Kelamin. Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya, Malang.
- Toelihere, M.R., dan T.L. Yusuf. 1993. Inseminasi Buatan pada Ternak. Penerbit Angkasa Bandung, Bandung.
- Toelihere, M.R. 1985. Inseminasi Buatan pada Ternak. Angkasa, Bandung
- Yani, A., Nuryadi dan Pratiwi. T. 2001. Pengaruh tingkat substansi santan kelapa pada pengencer tris dan waktu penyimpanan terhadap kualitas semen kambing Peranakan ettawa (PE). *Biosain*, Vol 1 No. 1 : 25-29.

Lampiran 1. Data Motilitas Spermatozoa X dan Y Tanpa Kafein dan Dengan Penambahan Kafein

Medium	Level	Waktu	Ulangan	Sebelum Transformasi					Setelah Transformasi Aresin					M5		
				M0	M1	M2	M3	M4	M5	M0	M1	M2	M3		M4	
1	1	1	1	55	51,7	41,7	28	11,7	0	47,87	45,97	40,22	31,95	20,06	0	
1	1	1	2	72,7	62,7	54	49,7	36,7	26,7	58,5	52,36	47,29	44,83	37,29	31,11	
1	1	1	3	59,3	50	42,7	36,7	25	16,7	50,36	45	40,8	37,29	30	24,12	
Rataan				62,3333	54,8	46,13333	38,13333	24,46667	14,46667	52,24333	47,7667	42,77	38,02333	29,11667	18,41	
1	1	2	1	60	55,3	44,7	26,7	16,7	0	50,77	48,04	41,96	31,11	24,12	0	
1	1	2	2	70,7	61,3	50,7	40	31	18,3	57,23	51,53	45,4	39,23	33,83	25,33	
1	1	2	3	57,7	50,3	38,3	28,3	17,7	10,7	49,43	45,17	38,23	32,14	24,88	19,09	
Rataan				62,8	55,63333	44,56667	31,66667	21,8	9,666667	52,47667	48,24667	41,86333	34,16	27,61	14,80667	
1	1	3	1	55	54,3	41	19,3	8,5	0	47,87	47,47	39,82	26,06	16,95	0	
1	1	3	2	72	59,3	51	39	26,7	18,3	58,05	50,36	45,57	38,65	31,11	25,33	
1	1	3	3	55	46	36,7	25	15	10	47,87	42,71	37,29	30	22,79	18,44	
Rataan				60,66667	53,2	42,9	27,66667	16,73333	9,433333	51,26333	46,84667	40,89333	31,57	23,61667	14,59	
2	1	1	1	55	53,3	38,7	16,7	10	0	47,87	46,89	38,47	24,12	18,44	0	
2	1	1	2	70	61	53	40	23,3	16,7	56,79	51,35	46,72	39,23	28,86	24,12	
2	1	1	3	52,3	43,3	35	25,7	11,7	6,7	46,32	41,15	36,27	30,46	20	15	
Rataan				59,1	52,53333	42,23333	27,46667	15	7,8	50,32667	46,46333	40,48667	31,27	22,43333	13,04	
2	1	2	1	60	60	49,3	43,3	37	26	50,77	50,77	44,6	45,15	37,47	30,66	
2	1	2	2	77,7	70,7	66	53,3	46,7	38,3	61,34	56,79	54,33	46,89	43,11	38,23	
2	1	2	3	69	64	52,7	46,7	39,7	30	56,17	53,13	46,55	43,11	39,06	33,21	
Rataan				68,66667	64,66667	56	47,76667	41,13333	31,43333	26	56,02333	53,56333	48,49333	45,05	39,88	34,03333
2	1	3	1	60	58,7	49	41,7	37	26	50,77	50,01	44,43	40,22	37,47	30,66	
2	1	3	2	77,7	70,7	65	52,3	47	39	61,82	57,23	53,73	46,32	43,28	38,65	
2	1	3	3	68,3	64	51,7	40	31,7	25	55,73	53,13	45,97	39,23	34,27	30	
Rataan				68,66667	64,46667	55,23333	44,66667	38,56667	30	56,10667	53,45667	48,04333	41,92333	38,34	33,10333	
2	1	4	1	55	53,3	46	39,7	31,7	17,7	47,87	46,89	42,71	39,06	34,27	24,88	
2	1	4	2	75,3	69,7	65,7	53	45	36,7	60,2	56,6	54,15	46,72	42,13	37,29	
2	1	4	3	64	60,7	47,7	39	31	23,3	53,37	51,18	43,68	38,65	33,83	28,93	
Rataan				64,76667	61,23333	53,13333	43,9	35,9	25,9	53,81333	51,55667	46,84667	41,47667	36,74333	30,36667	
2	1	4	1	55	54	44	31,7	28,7	20	47,87	47,29	41,55	34,27	32,39	26,56	
2	1	4	2	73,7	68,3	66	51	42,3	35,3	59,34	55,73	54,33	45,51	40,57	36,45	
2	1	4	3	63,7	56	45	39	30	20	52,95	48,45	42,13	38,65	33,21	26,56	

1	2	1	1	64,12333	59,43333	51,66667	40,56667	33,66667	25,1	53,38667	50,49	46,00333	39,47667	35,39	29,85667
1	2	1	2	60	45	36,67	35,67	20	0	50,77	42,13	37,29	36,69	26,56	0
1	2	1	2	61,67	60	54,67	49	39,33	26,67	51,77	50,77	47,7	44,43	38,82	31,11
1	2	1	3	57,67	51,67	40	33,33	23,33	17,33	49,43	45,97	39,23	35,24	28,86	24,58
1	2	2	1	59,78	52,22333	43,78	27,44333	27,53333	14,66667	50,65667	46,29	41,40667	38,78667	31,41333	18,56333
1	2	2	2	60	44,67	34,33	29,33	15	0	50,77	41,96	35,85	32,77	22,79	0
1	2	2	3	61,67	56,67	55	29,33	15	0	51,77	48,85	47,87	32,77	22,79	0
1	2	2	3	55	46,67	40,67	26,67	16	11,67	47,87	43,11	39,64	31,11	23,58	20
1	2	3	1	58,89	49,33667	29,77667	28,44333	15,33333	3,89	50,13667	44,64	41,12	32,21667	23,05333	6,666667
1	2	3	2	55	38,33	35	23,33	12,66	0	47,87	38,23	36,27	28,86	20,79	0
1	2	3	3	66	60,3	55,67	47,67	33,33	24,33	54,33	50,94	48,27	43,68	35,24	29,53
1	2	3	3	52,67	46,67	36	27,33	16,67	10	46,55	43,11	36,87	31,5	24,12	18,44
1	2	4	1	57,89	48,43333	42,22333	32,77667	20,88667	11,44333	49,58333	44,09333	40,47	34,68	26,71667	15,99
1	2	4	2	55	39,33	28,33	23	10,67	0	47,87	38,82	32,18	28,66	19,09	0
1	2	4	3	58,33	58	53,33	45	29,33	21,67	49,78	49,6	46,86	42,13	32,77	27,76
1	2	4	3	48,33	42,67	35	20	11,67	9	44,03	40,8	36,27	26,56	20	17,46
2	2	1	1	53,88667	46,66667	38,88667	29,33333	17,22333	10,22333	47,22667	43,07333	38,43667	32,45	23,95333	15,07333
2	2	1	2	60	56,33	47,33	40	34,67	21,67	50,77	48,62	43,45	39,23	36,09	27,76
2	2	1	3	61,67	53,33	56	48,33	48,33	40	51,77	46,89	48,45	44,03	44,03	39,23
2	2	1	3	67,67	56,67	53,33	40	43,33	30	53,37	48,85	46,89	39,23	41,15	33,21
2	2	2	1	63,11333	55,44333	52,22	42,77667	42,11	30,55667	51,97	48,12	46,26333	40,83	40,42333	33,4
2	2	2	2	60	57,67	49,33	40	35,33	24,33	50,77	49,43	44,6	39,23	36,45	29,53
2	2	2	3	60	51,67	41,67	45	38,33	31,67	50,77	45,97	40,22	42,13	38,23	34,27
2	2	2	3	64,33	56,67	54,33	40	41,67	28,33	53,31	48,85	47,47	39,23	40,22	32,14
2	2	3	1	61,44333	55,33667	48,44333	41,66667	38,44333	28,11	51,61667	48,08333	44,09667	40,19667	38,3	31,98
2	2	3	2	55	54	44	35,67	31,33	23,33	47,87	47,29	41,55	36,69	34,02	28,86
2	2	3	3	64,67	53,33	51,67	48,33	47,33	36,67	53,55	46,89	45,97	44,03	43,45	37,29
2	2	3	3	56,67	53,33	52,67	46,67	41,67	27,33	48,85	46,89	46,35	44,11	40,22	31,5
2	4	4	1	58,78	53,55333	49,44667	43,55667	40,11	29,11	50,09	47,02333	44,69	41,61	39,23	32,55
2	4	4	2	55	52	42,44	31,67	28,33	21	47,87	46,15	40,63	34,27	32,14	27,28
2	4	4	3	71,67	53	66	51,66	45	36	57,86	46,73	54,33	45,97	42,13	36,87
2	4	4	3	58,33	53,33	36,67	43,33	37,67	23,33	49,78	46,89	37,29	41,15	37,88	28,86
2	4	4	3	61,66667	52,77667	48,37	42,22	37	26,77667	51,83667	46,59	44,08333	40,46333	37,88333	31,00333

Lampiran 2. Data Persentase Hidup Spermatozoa X dan Y Tanpa Kafein dan Dengan Penambahan Kafein

Medium	Level	Waktu	Ulangan	Sebelum Transformasi					Setelah Transformasi Arcsin						
				P0	P1	P2	P3	P4	P5	P0	P1	P2	P3	P4	P5
1	1	1	1	61,1	61,3	58,7	42,7	32,9	20,9	51,41	51,53	50,01	40,8	35	27,2
1	1	1	2	70,3	61,1	59,2	53,9	46,4	38,7	56,98	51,41	50,3	47,24	42,49	38,47
1	1	1	3	67,6	54,4	50	49	48,8	48,1	55,3	47,52	45	44,43	44,51	43,91
			Rataan	66,33333	58,93333	55,96667	48,53333	42,7	35,9	54,56333	50,15333	48,43667	44,15667	40,66667	36,52667
1	1	2	1	70	69,3	64,5	47,6	38,2	21,6	56,79	56,35	53,43	43,62	38,17	27,69
1	1	2	2	74,9	70,7	61,1	56,8	53,7	49,4	59,93	57,23	51,41	48,91	47,12	44,66
1	1	2	3	67	65,1	62,4	55,7	55,5	50	54,94	53,79	52,18	48,27	48,16	45
			Rataan	70,63333	68,36667	62,66667	53,36667	49,13333	40,33333	57,22	55,79	52,34	46,93333	44,48333	39,11667
1	1	3	1	67,7	62,8	59	39,7	36,2	18,4	55,37	52,42	50,18	39,06	36,99	25,4
1	1	3	2	67,7	63,3	58,3	54,4	50,3	45,9	55,37	52,71	49,78	47,52	45,17	42,65
1	1	3	3	77,9	60,2	56,3	55,8	53,9	52	61,96	50,89	48,62	48,33	47,24	46,15
			Rataan	71,1	62,1	57,86667	49,96667	46,8	38,76667	57,56667	52,06667	49,52667	44,97	43,13333	38,06667
1	1	4	1	66,7	61,8	59,3	46,5	35	18,9	54,76	51,83	50,36	42,99	36,27	25,77
1	1	4	2	68,2	60	60,1	51,9	50,8	46,7	55,67	50,77	50,83	46,09	45,46	43,11
1	1	4	3	73,9	60,8	59,5	59,8	58,9	52,6	59,34	51,24	50,48	50,65	50,13	46,49
			Rataan	69,6	60,86667	59,63333	52,73333	48,23333	39,4	56,59	51,28	50,55667	46,57667	43,95333	38,45667
2	1	1	1	75,9	69,4	65	64,8	58	42,5	60,6	56,42	53,73	55,61	49,6	40,92
2	1	1	2	71,8	70,5	62	61,5	51,2	45,9	57,92	57,1	51,94	51,65	45,69	42,65
2	1	1	3	71,3	71,3	67,5	59,8	52,7	48,5	57,61	57,61	57,61	56,65	46,55	44,14
			Rataan	73	70,4	64,83333	62,03333	53,96667	45,63333	58,71	57,04333	54,42667	53,97	47,28	42,57
2	1	2	1	76,7	67,1	62,6	56,5	54,7	40,1	61,14	55	52,06	48,73	47,7	39,29
2	1	2	2	72,2	72,2	64,5	64,1	61,8	59,5	58,18	58,18	53,43	53,19	51,83	50,48
2	1	2	3	71,3	71,6	69,9	52,3	52,8	47,9	57,8	57,8	56,73	46,32	46,61	43,8
			Rataan	73,4	70,3	65,66667	57,63333	56,43333	49,16667	59,04	56,99333	54,07333	49,41333	48,71333	44,52333
2	1	3	1	76,8	73,4	68,5	60,3	50,9	39,5	61,21	58,05	55,86	50,94	45,52	38,94
2	1	3	2	74	68,8	68,5	68,3	61,4	61,8	59,34	56,04	55,86	55,73	51,59	51,83
2	1	3	3	71,2	71,8	56,9	55,7	54,5	51,9	57,54	57,92	48,97	48,27	47,58	46,09
			Rataan	74	71,33333	64,63333	61,43333	55,6	51,06667	59,36333	57,33667	53,56333	51,64667	48,23	45,62
2	1	4	1	74	73	70	58,6	50,9	37,9	59,34	58,05	56,79	49,95	45,52	38

2	1	4	2	71,4	67,7	65,2	59,3	55,4	47,7	57,67	55,67	53,85	50,36	48,1	45,68
2	1	4	3	70,5	65,4	62	57,8	54,4	51,5	57,1	53,97	52,06	49,49	47,52	45,86
Rataan															
1	2	1	1	70,5	68,7	65,8	63,6	63,4	50	57,1	55,89667	54,23333	49,93333	47,04667	42,51333
1	2	1	2	63,2	61,9	55,1	54,2	50	50	52,65	51,88	47,93	47,41	45	45
1	2	1	3	71,9	62,9	61,7	54,3	50,1	47,2	57,99	52,48	51,77	47,47	45,06	43,39
Rataan															
1	2	2	1	68,53333	64,06667	60,86667	57,36667	54,5	49,06667	55,91333	53,18	51,30333	49,25667	47,61	44,46333
1	2	2	2	64,5	52,5	62,1	60	57,2	55,1	53,43	46,32	52	50,77	49,14	47,93
1	2	2	2	63,1	57,9	56,6	56,3	55,5	50	52,59	49,54	48,79	48,62	48,16	45
1	2	2	3	63,7	60,5	60	56,3	45,1	38,3	52,95	50,94	50,77	48,62	42,19	38,23
Rataan															
1	2	3	1	63,76667	56,83333	59,56667	57,53333	52,6	47,8	52,99	48,93333	50,52	49,35667	46,49667	43,72
1	2	3	2	61,3	57,7	54,2	55,5	51,9	47,5	51,43	49,43	47,41	48,16	46,09	43,57
1	2	3	2	66,3	61,7	57,1	53,3	50	46,1	54,51	51,77	49,08	46,89	45	42,76
1	2	3	3	68,7	60,5	58,3	47,8	46	43,3	55,98	51,06	49,78	43,74	42,71	41,15
Rataan															
1	2	4	1	65,43333	59,96667	56,53333	52,2	49,3	45,63333	54,00667	50,75333	48,75667	46,26333	44,6	42,49333
1	2	4	2	61,2	59,4	57,1	52,5	51,1	40,2	51,47	50,42	49,08	46,43	45,63	39,35
1	2	4	2	60,7	59,2	58,5	57,5	47,9	43,5	51,18	50,3	49,89	49,31	45,8	41,27
1	2	4	3	73,8	63,7	58,5	49,9	49,8	42,8	59,34	52,95	49,89	44,94	44,89	40,86
Rataan															
2	2	1	1	65,23333	60,76667	58,03333	53,3	49,6	42,16667	53,99667	51,22333	49,62	46,89333	44,77333	40,49333
2	2	1	1	74,9	71,8	62,8	59,1	57,2	49,7	60	57,92	52,42	50,24	49,14	44,83
2	2	1	2	63,2	58,3	57,9	50	50	42,1	52,65	49,78	49,52	45	45	40,46
2	2	1	3	68,7	61,5	57	50	46,3	45	55,98	51,65	49,02	45	42,88	42,13
Rataan															
2	2	2	1	68,93333	63,86667	59,23333	53,03333	51,16667	45,6	56,21	53,16667	50,32	46,74667	45,67333	42,47333
2	2	2	2	70,3	69,8	67,5	63,9	57,9	45,9	56,98	56,66	55,24	53,07	49,54	42,65
2	2	2	2	61	55,4	44,6	45,5	40	33,3	51,35	48,1	41,9	42,42	39,23	35,24
2	2	2	3	60,2	60	57,2	43,9	42,9	41,5	50,89	50,77	49,14	41,5	40,92	40,11
Rataan															
2	2	3	1	63,83333	61,73333	56,43333	51,1	46,93333	40,23333	53,07333	51,84333	48,76	45,66333	43,23	39,53333
2	2	3	2	70,2	65,3	54,7	53,1	51,3	30,1	56,91	53,91	47,7	46,78	45,75	33,27
2	2	3	2	66,3	54,3	59	50,8	50	41,8	54,51	47,47	50,18	45,46	45	40,28
2	2	3	3	61,5	57,5	53,8	53,2	50,7	50	51,65	49,31	47,18	46,83	45,4	45
Rataan															
2	2	4	1	66	59,03333	55,83333	52,36667	50,66667	40,63333	54,35667	50,23	48,35333	46,35667	45,38333	39,51667
2	2	4	2	72,1	70,1	62,2	61,5	54,7	50,2	58,12	56,85	53,06	51,65	47,7	45,11
2	2	4	2	72	68,7	67,5	64,5	59,6	48,4	58,02	55,98	55,24	53,45	50,53	44,08
2	2	4	3	64,6	55,8	48	44,9	44,8	44,1	53,49	48,33	43,85	42,07	42,02	41,61
Rataan															
2	2	4	3	69,56667	64,86667	59,23333	56,96667	53,03333	47,56667	56,54333	53,72	50,71667	49,05	46,75	43,6

Lampiran 3. Data Panjang, Lebar dan Elipticitas Kepala Spermatozoa X dan Y Tanpa Kafein dan Dengan Penambahan Kafein.

Medium	Level	Waktu	Ulangan	Panjang Kepala	Lebar Kepala	Ellipticity
1	1	1	1	2,74	1,51	2,07
1	1	1	2	3,02	1,64	1,86
1	1	1	3	2,97	1,06	2,83
Rataan				2,91	1,40	2,25
1	1	2	1	3,17	1,61	1,98
1	1	2	2	3,02	1,73	1,79
1	1	2	3	3,08	1,14	2,74
Rataan				3,09	1,49	2,17
1	1	3	1	3,05	1,40	2,24
1	1	3	2	3,01	1,62	1,90
1	1	3	3	3,09	1,21	2,58
Rataan				3,05	1,41	2,24
1	1	4	1	3,00	1,26	2,45
1	1	4	2	3,01	1,58	1,94
1	1	4	3	3,03	1,06	2,87
Rataan				3,01	1,30	2,42
2	1	1	1	2,93	1,21	2,48
2	1	1	2	2,87	1,27	2,28
2	1	1	3	2,98	1,07	2,83
Rataan				2,93	1,18	2,53
2	1	2	1	2,84	1,22	2,37
2	1	2	2	2,80	1,31	2,16
2	1	2	3	2,99	1,08	2,78
Rataan				2,88	1,20	2,44
2	1	3	1	2,98	1,14	2,63
2	1	3	2	2,89	1,44	2,02
2	1	3	3	2,93	1,01	2,90
Rataan				2,93	1,20	2,52
2	1	4	1	2,92	1,21	2,44
2	1	4	2	2,87	1,34	2,08
2	1	4	3	2,98	1,06	2,83
Rataan				2,92	1,20	2,45
1	2	1	1	3,18	1,44	1,76
1	2	1	2	3,09	1,33	1,68
1	2	1	3	2,97	1,27	1,92
Rataan				3,08	1,35	1,79
1	2	2	1	3,00	1,40	1,62
1	2	2	2	3,07	1,23	1,69
1	2	2	3	3,02	1,30	2,12
Rataan				3,03	1,31	1,81
1	2	3	1	3,00	1,55	1,77
1	2	3	2	3,04	1,26	1,61
1	2	3	3	2,98	1,15	1,92

Lampiran 6. Hasil analisis Ragam Pengaruh Penambahan Kafein pada faktor penyimpanan untuk pengukuran berulang terhadap Motilitas Spermatozoa

Source	FACTOR1	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Lama Penyimpanan	Linear	26189,407	1	26189,407	633,294	,000
	Quadratic	491,438	1	491,438	30,645	,000
	Cubic	20,669	1	20,669	2,270	,142
	Order 4	9,262	1	9,262	2,359	,134
	Order 5	8,950	1	8,950	2,116	,156
Lama Penyimpanan * MEDIUM	Linear	1742,400	1	1742,400	42,134	,000
	Quadratic	169,744	1	169,744	10,585	,003
	Cubic	3,665	1	3,665	,403	,530
	Order 4	5,887	1	5,887	1,500	,230
	Order 5	1,540	1	1,540	,364	,550
Lama Penyimpanan * LEVEL	Linear	135,209	1	135,209	3,270	,080
	Quadratic	3,313	1	3,313	,207	,653
	Cubic	50,055	1	50,055	5,497	,025
	Order 4	,775	1	,775	,197	,660
	Order 5	1,095	1	1,095	,259	,614
Lama Penyimpanan * WAKTU	Linear	98,998	3	32,999	,798	,504
	Quadratic	6,128	3	2,043	,127	,943
	Cubic	17,519	3	5,840	,641	,594
	Order 4	6,543	3	2,181	,556	,648
	Order 5	5,469	3	1,823	,431	,732
Lama Penyimpanan * MEDIUM * LEVEL	Linear	19,894	1	19,894	,481	,493
	Quadratic	9,305	1	9,305	,580	,452
	Cubic	,082	1	,082	,009	,925
	Order 4	,684	1	,684	,174	,679
	Order 5	3,096	1	3,096	,732	,399
Lama Penyimpanan * MEDIUM * WAKTU	Linear	46,097	3	15,366	,372	,774
	Quadratic	25,533	3	8,511	,531	,664
	Cubic	17,247	3	5,749	,631	,600
	Order 4	,373	3	,124	,032	,992
	Order 5	8,144	3	2,715	,642	,594

Lama Penyimpanan1 * LEVEL * WAKTU	Linear					
	Quadratic	48,219	3	16,073	,389	,762
	Cubic	7,714	3	2,571	,160	,922
	Order 4	1,800	3	,600	,066	,978
	Order 5	4,243	3	1,414	,360	,782
		5,524	3	1,841	,435	,729
Lama Penyimpanan* MEDIUM * LEVEL * WAKTU	Linear	35,011	3	11,670	,282	,838
	Quadratic	4,234	3	1,411	,088	,966
	Cubic	2,716	3	,905	,099	,960
	Order 4	2,120	3	,707	,180	,909
	Order 5	5,942	3	1,981	,468	,706
Error(FACTOR1)	Linear	1323,336	32	41,354		
	Quadratic	513,161	32	16,036		
	Cubic	291,379	32	9,106		
	Order 4	125,630	32	3,926		
	Order 5	135,354	32	4,230		

Lampiran 7. Rataan Motilitas Spermatozoa X dan Y

MEDIUM	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	35,354	1,059	33,197	37,511
2	43,444	1,059	41,288	45,601

Lampiran 8. Rataan Motilitas Spermatozoa Tanpa Kafein dan Dengan Penambahan Kafein pada Lama Pengamata

LEVEL	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	1,299	,039	1,219	1,380
2	1,247	,039	1,167	1,328

Lampiran 9. Rataan Penurunan Motilitas Spermatozoa Selama Penyimpanan

FACTOR1	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	51,802	,643	50,493	53,111
2	47,895	,565	46,743	49,046
3	43,498	,807	41,853	45,143
4	37,761	,769	36,195	39,328
5	32,100	,794	30,483	33,717
6	23,340	1,521	20,242	26,438

Lampiran 10. Rataan Motilitas Spermatozoa X dan Y pada Lama Pengamatan

Lama Pengamatan (Jam)	Spermatozoa X	Spermatozoa Y
1	50,489 ± 0.909	53,114 ± 0.909
2	45,929 ± 0.799	49,86 ± 0.799
3	40,931 ± 1.142	46,065 ± 1.142
4	34,145 ± 1.087	41,378 ± 1.087
5	25,989 ± 2.151	38,211 ± 2.151
6	14,642 ± 1.123	32,037 ± 1.123

Lampiran 11. Rataan Motilitas Spermatozoa Tanpa kafein dan Dengan Penambahan Kafein Selama Penyimpanan

Lama Pengamatan (Jam)	Spermatozoa X	Spermatozoa Y
1	53,214 ± 0.909	50,390 ± 0.909
2	49,800 ± 0.799	45,989 ± 0.799
3	44,425 ± 1.142	42,571 ± 1.142
4	37,869 ± 1.087	37,654 ± 1.087
5	31,641 ± 1.123	32,559 ± 1.123
6	23,526 ± 2.151	23,153 ± 2.151

Lampiran 12. Hasil Analisis Ragam Pengaruh Penambahan Kafein terhadap Persentase Hidup Spermatozoa X dan Y

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	696749,792	1	696749,792	16453,961	,000
MEDIUM	315,821	1	315,821	7,458	,010
LEVEL	130,532	1	130,532	3,083	,089
WAKTU	12,096	3	4,032	,095	,962
MEDIUM * LEVEL	403,872	1	403,872	9,538	,004
MEDIUM * WAKTU	58,459	3	19,486	,460	,712
LEVEL * WAKTU	147,458	3	49,153	1,161	,340
MEDIUM * LEVEL * WAKTU	102,842	3	34,281	,810	,498
Error	1355,053	32	42,345		

Lampiran13. Hasil Analisa Ragam Pengaruh Penambahan Kafein pada faktor penyimpanan untuk pengukuran berulang terhadap Persentase Hidup Spermatozoa

Source	FACTOR 1	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Lama Penyimpanan	Linear	6739,679	1	6739,679	247,367	,000
	Quadratic	22,269	1	22,269	2,014	,165
	Cubic	17,542	1	17,542	4,898	,034
	Order 4	,207	1	,207	,096	,758
	Order 5	9,120	1	9,120	3,665	,065
Lama Penyimpanan * MEDIUM	Linear	,164	1	,164	,006	,939
	Quadratic	,899	1	,899	,081	,777
	Cubic	2,156	1	2,156	,602	,444
	Order 4	4,351	1	4,351	2,024	,165
	Order 5	5,470	1	5,470	2,199	,148
Lama Penyimpanan * LEVEL	Linear	164,482	1	164,482	6,037	,020
	Quadratic	6,353	1	6,353	,575	,454
	Cubic	2,727	1	2,727	,761	,389
	Order 4	,015	1	,015	,007	,933
	Order 5	,238	1	,238	,096	,759
Lama Penyimpanan * WAKTU	Linear	2,489	3	,830	,030	,993
	Quadratic	11,351	3	3,784	,342	,795
	Cubic	4,792	3	1,597	,446	,722
	Order 4	2,185	3	,728	,339	,797
	Order 5	3,417	3	1,139	,458	,714
Lama Penyimpanan * MEDIUM * LEVEL	Linear	60,598	1	60,598	2,224	,146
	Quadratic	2,503	1	2,503	,226	,637
	Cubic	,599	1	,599	,167	,685
	Order 4	2,328	1	2,328	1,083	,306
	Order 5	3,627	1	3,627	1,458	,238
Lama Penyimpanan * MEDIUM * WAKTU	Linear	7,498	3	2,499	,092	,964
	Quadratic	7,105	3	2,368	,214	,886
	Cubic	3,322	3	1,107	,309	,819
	Order 4	2,698	3	,899	,418	,741
	Order 5	1,557	3	,519	,209	,890

Lama Penyimpanan * LEVEL * WAKTU	Linear	5,535	3	1,845	,068	,977
	Quadratic	12,525	3	4,175	,378	,770
	Cubic	4,518	3	1,506	,420	,740
	Order 4	15,059	3	5,020	2,335	,092
	Order 5	7,759	3	2,586	1,040	,388
Lama Penyimpanan * MEDIUM * LEVEL * WAKTU	Linear	23,193	3	7,731	,284	,837
	Quadratic	12,497	3	4,166	,377	,770
	Cubic	16,623	3	5,541	1,547	,221
	Order 4	3,416	3	1,139	,530	,665
	Order 5	8,590	3	2,863	1,151	,344
Error(FACTOR1)	Linear	871,863	32	27,246		
	Quadratic	353,794	32	11,056		
	Cubic	114,617	32	3,582		
	Order 4	68,792	32	2,150		
	Order 5	79,620	32	2,488		

Lampiran 14. Rataan Persentase Hidup Spermatozoa X dan Y

MEDIUM	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	48,139	,542	47,034	49,243
2	50,233	,542	49,129	51,338

Lampiran 15. Rataan Penurunan Persentase Hidup Spermatozoa Selama Penyimpanan

Lama Penyimpanan	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	56,136	,395	55,333	56,940
2	53,094	,363	52,354	53,833
3	50,969	,439	50,076	51,863
4	47,948	,514	46,901	48,995
5	45,501	,576	44,327	46,675
6	41,468	,880	39,675	43,261

Lampiran 16. Rataan Persentase Hidup Spermatozoa X dan Y Selama Penyimpanan

Lama Pengamatan (Jam)	Spermatozoa X	Spermatozoa Y
1	55,356 ± 0.558	56,917 ± 0.558
2	51,665 ± 0.513	54,522 ± 0.513
3	50,132 ± 0.620	51,806 ± 0.620
4	46,798 ± 0.727	49,098 ± 0.727
5	44,465 ± 0.815	46,538 ± 0.815
6	40,417 ± 1.245	42,519 ± 1.245

Lampiran 17. Hasil Analisis Ragam Panjang Kepala Spermatozoa X dan Y

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	,189(a)	15	,013	2,415	,018
Intercept	425,425	1	425,425	81714,328	,000
MEDIUM	,112	1	,112	21,538	,000
LEVEL	,007	1	,007	1,255	,271
WAKTU	,004	3	,001	,235	,871
MEDIUM * LEVEL	,000	1	,000	,040	,843
MEDIUM * WAKTU	,011	3	,004	,705	,556
LEVEL * WAKTU	,021	3	,007	1,320	,285
MEDIUM * LEVEL * WAKTU	,034	3	,011	2,203	,107
Error	,167	32	,005		
Total	425,780	48			
Corrected Total	,355	47			

Lampiran 18. Rataan Panjang Kepala Spermatozoa X dan Y

MEDIUM	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	3,025	,015	2,995	3,055
2	2,929	,015	2,899	2,959

Lampiran 22. Hasil Analisis Ragam Ellipticitas Spermatozoa X dan Y

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3,324(a)	15	,222	2,129	,036
Intercept	222,612	1	222,612	2138,782	,000
MEDIUM	,718	1	,718	6,897	,013
LEVEL	2,399	1	2,399	23,045	,000
WAKTU	,076	3	,025	,244	,665
MEDIUM * LEVEL	,012	1	,012	,119	,733
MEDIUM * WAKTU	,051	3	,017	,163	,920
LEVEL * WAKTU	,006	3	,002	,020	,996
MEDIUM * LEVEL * WAKTU	,061	3	,020	,197	,898
Error	3,331	32	,104		
Total	229,266	48			
Corrected Total	6,654	47			

Lampiran 23. Rataan Ellipticitas Spermatozoa X dan Y

MEDIUM	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	2,031	,066	1,897	2,165
2	2,276	,066	2,142	2,410

Lampiran 24. Rataan Ellipticitas Spermatozoa Tanpa Penambahan Kafein dan Dengan Penambahan Kafein

LEVEL	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	2,377	,066	2,243	2,511
2	1,930	,066	1,796	2,064

Lampiran 25. Gambar Pengukuran Panjang Kepala Spermatozoa dengan Penggunaan Mikroskop 40 x 10.

Lampiran 26. Gambar Pengukuran Lebar Kepala Spermatozoa dengan Penggunaan Mikroskop 40 x 10.

Lampiran 27. Rumus Konsentrasi Kafein

$$mM = \text{Gr/Mr kafein} \times 1000/m$$

Untuk membuat konsenasi 3 mM :

$$3 \text{ mM} = 0,003 \text{ M}$$

$$0,003 \text{ M} = \text{Gr} / \text{Mr kafein}$$

$$0,003 \text{ M} = \text{Gr} / 212,2$$

$$\text{Gr} = 0,003 \times 212,2$$

$$= 0,6366$$

$$0,003\text{M} = 0,6366 / 212,2 \times 1000 / \dots\text{ml}$$

$$0,003 \text{ M} = 0,003 \times 1000 / \dots\text{ml}$$

$$0,003 \text{ M} = 3 / \dots\text{ml}$$

$$\text{ml} = 3 / 0,003$$

$$\text{ml} = 1000$$



RIWAYAT HIDUP



Sry Gusmawati dilahirkan di Kabupaten Enrekang Sulawesi Selatan pada tanggal 20 Februari 1984. Menjalankan jenjang pendidikan dari SD Neg.1 Citak Mitak, SLTP Neg. 1 Maiwa, dan SPP Neg Rappang. Penulis adalah anak pertama dari dua bersaudara, dari pasangan M. Asri. K dan Agustina. Penulis lulus di SD Neg.1 Citak Mitak pada Tahun 1996 dan lanjut di SLTP Negeri 1 Maiwa pada Tahun 1997-2000. kemudian lanjut di SPP Negeri Rappang pada Tahun 2002-2003. Pada Tahun 2003 penulis mendaftar di Universitas Hasanuddin melalui jalur SPMB (Seleksi Penerimaan Mahasiswa Baru) dan diterima di Fakultas Peternakan Jurusan Produksi Ternak.