

TESIS

**PENGARUH PENAMBAHAN LESITIN KEDELAI PADA
PENGECER TRIS DALAM MEMPERTAHANKAN
KUALITAS SEMEN SAPI BALI SELAMA
KRIOPRESERVASI**

*THE EFFECT OF SOYBEAN LECITHIN ON TRIS DILUENT IN
MAINTAINING THE QUALITY OF BALI BULL SEMEN DURING
CRYOPRESERVATION*

**ZAHRA JINAN FADILLA
I012212027**



**PROGRAM STUDI MAGISTER
ILMU DAN TEKNOLOGI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

TESIS

**PENGARUH PENAMBAHAN LESITIN KEDELAI PADA PENGECER
TRIS DALAM MEMPERTAHANKAN KUALITAS SEMEN SAPI BALI
SELAMA KRIOPRESERVASI**

Disusun dan diajukan oleh

**ZAHRA JINAN FADILLA
I012212027**



**PROGRAM STUDI MAGISTER
ILMU DAN TEKNOLOGI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

TESIS

PENGARUH PENAMBAHAN LESITIN KEDELAI PADA PENGECER TRIS DALAM MEMPERTAHANKAN KUALITAS SEMEN SAPI BALI SELAMA KRIOPRESERVASI

Disusun dan diajukan oleh

Zahra Jinan Fadilla
NIM. 1012212027

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Magister Program Studi Ilmu dan Teknologi
Peternakan Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin
Pada tanggal 25 Januari 2024
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Pembimbing Utama

Pembimbing Anggota



Prof. Ir. Muhammad Yusuf, S.Pt., Ph.D., IPU
NIP. 19700725 199903 1 001

Prof. Dr. Ir. Abd. Latief Toleng, M.Sc
NIP. 19540602 197802 1 001

Ketua Program Studi
Ilmu dan Teknologi Peternakan

Dekan Fakultas Peternakan
Universitas Hasanuddin



Prof. Dr. Ir. Ambo Ako, M. Sc., IPU
NIP. 19641231 198903 1 026



Dr. Syahdar Baba, S.Pt., M.Si
NIP. 19731217 200312 1 001

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Zahra Jinan Fadilla
Nomor Induk Mahasiswa : I012212027
Program Studi : Ilmu dan Teknologi Peternakan
Jenjang : S2

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul :

PENGARUH PENAMBAHAN LESITIN KEDELAI PADA PENGECER TRIS DALAM MEMPERTAHANKAN KUALITAS SEMEN SAPI BALI SELAMA KRIOPRESERVASI

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain. Tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 31 Januari 2024
Yang Menyatakan



Zahra Jinan Fadilla

ABSTRAK

ZAHRA JINAN FADILLA. I012212027. Pengaruh Penambahan Lesitin Kedelai Pada Pengencer Tris Dalam Mempertahankan Kualitas Semen Sapi Bali Selama Kriopreservasi. Pembimbing utama **Muhammad Yusuf** dan pembimbing anggota **Abd Latief Toleng**.

Kedelai berperan sebagai krioprotektan ekstraseluler yang menjaga integritas membran sel sperma dengan kandungan utamanya, yaitu Lesitin. Lesitin dari kedelai melindungi sel sperma dari dampak dingin dan mengurangi stres oksidatif selama proses kriopreservasi. Semen sapi Bali ditampung menggunakan metode vagina buatan dengan frekuensi penampungan empat kali dalam seminggu. Semen diencerkan dengan Tris Aminomethan dan ditambahkan bubuk Lesitin Kedelai P1 (1%), P2 (3%), dan P3 (5%). Pengujian kontrol terdiri dari Andromed (K1) sebagai kontrol positif dan Tris tanpa Lesitin Kedelai (K2) sebagai kontrol negatif. Parameter yang diamati diantaranya ada motilitas individu, motilitas progresif, pola pergerakan, viabilitas, integritas membran, dan integritas akrosom. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pengenceran semen dengan Lesitin Kedelai sebelum dan setelah pembekuan tidak menunjukkan perbedaan signifikan antar perlakuan, tetapi rata-rata tertinggi tercatat pada perlakuan P2, dibandingkan dengan K1, K2, P1, dan P3. Sementara itu, pola pergerakan yang terdiri dari rata-rata kecepatan (VAP), kecepatan kurva (VCL), kecepatan lurus (VSL), rata-rata jarak (DAP), jarak kurva (DCL), dan jarak lurus (DSL) menunjukkan peningkatan rata-rata setelah proses pembekuan pada P3, sedangkan K1, K2, P1, dan P2 mengalami penurunan yang signifikan setelah pembekuan atau berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan P3. Kesimpulannya, semen sapi Bali yang diencerkan dengan 1% dan 3% Tris Lesitin Kedelai menghasilkan karakteristik yang baik, menjaga motilitas, viabilitas, MPU, dan TAU setelah pembekuan. Pada parameter pola pergerakan sperma, sperma yang bergerak secara progresif terlihat pada penambahan Lesitin Kedelai dengan konsentrasi 5%.

Kata Kunci : Lesitin Kedelai; Kriopreservasi; Semen Sapi Bali; Karakteristik Sperma; Pola Pergerakan

ABSTRACT

ZAHRA JINAN FADILLA. I012212027. The Effect Of Soy Lecithin On Tris Diluent In Maintaining The Quality Of Bali Bull Semen During Cryopreservation. Supervised by **Muhammad Yusuf** and **Abd Latief Toleng**.

Soy acts as an extracellular cryoprotectant that maintains membrane integrity sperm cell with their main content, Lecithin. Lecithin from Soy can protects cells from the impact of cold and reduces oxidative stress during the cryopreservation process. Bali bull semen is carried out using the artificial vagina method with a frequency of collection four times a week. Semen was diluted with Tris Aminomethan and added Soy Lecithin powder P1 (1%), P2 (3%), and P3 (5%). Control testing involved andromed (K1) as positive control and Tris without Soy Lecithin (K2) as negative control. The parameters observed included individual motility, progressive motility, movement pattern, viability, membrane integrity, and acrosome integrity. The results showed that dilution of semen with Soy Lecithin before and after freezing did not show significant differences between the treatments, but the highest average was recorded in P2 compared to K1, K2, P1, and P3. Meanwhile, the movement patterns of Velocity Average Path (VAP), Velocity Curvelinear (VCL), Velocity Straightline (VSL), Distance Average Path (DAP), Distance Curveline (DCL), and Distance Straightline (DSL) showed an increase in average after the freezing process in P3, while K1, K2, P1, and P2 experienced a significant decrease after freezing or significantly different ($P < 0.05$) from P3. In conclusion, Bali bull semen diluted with P2 3% Soy Tris Lecithin produced good characteristics, maintains motility, viability, membrane plasma integrity, and acrosome integrity after freezing. On the sperm kinematics parameter, the best progressive movement was seen in 5% of Soy Lecithin.

Keywords: Soybean Lecithin, Cryopreservation, Bali Bull Semen, Characteristics Sperm, Kinematics

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Puji syukur atas ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan seluruh rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis penulis sebagai salah satu syarat dalam memperoleh gelar magister pada Ilmu dan Teknologi Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin. Semoga dengan adanya tesis ini yang berjudul "**Pengaruh Penambahan Lesitin Kedelai Pada Pengencer Tris Dalam Mempertahankan Kualitas Semen Sapi Bali Selama Kriopreservasi**" dapat memberikan banyak manfaat kepada setiap orang yang membacanya.

Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya berkat bantuan, dukungan, doa, serta motivasi dari berbagai pihak yang penulis hanturkan dengan segala keikhlasan dan kerendahan hati kepada:

1. Kedua orang tua penulis ayahanda dan ibunda tercinta **Muhammad Siarah** dan **Ummy Riasari**, yang senantiasa mendoakan penulis dan memberikan dukungan yang tiada hentinya sehingga dapat menyelesaikan penulisan makalah ini. Untuk kakak dan adek tercinta **Sasqia Fesanti Utami** dan **Muhammad Fachrul Rochman**, keluarga besar **Arief Hasanuddin** yang turut memberi dukungan maupun mendoakan penulis.
2. **Prof. Ir. Muhammad Yusuf, S.Pt., Ph.D., IPU.**, sebagai pembimbing utama dan **Prof. Dr. Ir. Abd Latief Toleng, M.Sc.**, selaku pembimbing anggota yang telah memberikan pengarahan dan membantu penulis dalam penyusunan tesis ini;
3. **Prof. Dr. Ir. Herry Sonjaya, DEA, DES.**, **Prof. Dr. Ir. Sudirman Baco, M.Sc** dan **Prof. Dr. Ir. Rr. Sri Rachma A. Bugiwati, M.Sc**, sebagai

penguji yang telah bersedia dalam memberikan saran dan masukan untuk penyusunan tesis ini;

4. **Athhar Manabi Diansyah, S.Pt** dan **Masturi, S.Pt., M.Si**, telah memberikan ilmu dan waktunya untuk membimbing penulis dalam menyusun tesis ini.
5. Adik-adik PKL **Reskiyanti, Lidya Astuti, Ahmad Hilal** dan **Budi Utomo**, yang telah membantu penulis selama penelitian.
6. Teman seperjuangan **Yohana Fransiska Desi, S.Pt., Nurhasmiati, S.Pt., A. Tifal Nurgina, S.Pt., Andri Tamiyadi, S.Pt** dan selaku **Keluarga Cemara** yang namanya tidak dapat penulis sebutkan satu persatu dan telah senantiasa membantu dan memberikan dukungan kepada penulis;
7. Teman-teman **GRIFIN 17** dan Teman-teman **Program Studi Magister Ilmu dan Teknologi Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin Angkatan 2021-2** yang telah membantu penulis selama perkuliahan dan senantiasa memberi dukungan kepada penulis.

Serta semua pihak yang telah turut membantu dalam menyelesaikan makalah usulan penelitian dan tidak dapat saya sebut satu persatu. Semoga makalah ini dapat bermanfaat bagi pembaca dan bagi penulis sendiri.

Makassar, Januari 2024

Zahra Jinan Fadilla

DAFTAR ISI

HASIL SAMPUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS.....	iii
ABSTRAK.....	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Kegunaan Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Kriopreservasi dan Krioprotektan.....	5
B. Faktor yang Mempengaruhi Kriopreservasi Sperma.....	6
C. Tinjauan Umum Pengencer	8
D. Tinjauan Umum Kedelai.....	9
E. Kedelai Sebagai Pengencer.....	10
F. Penggunaan Lesitin Kedelai untuk Kriopreservasi.....	12
G. Kerangka Pikir	12
BAB III MATERI DAN METODE	16
A. Waktu dan Tempat Penelitian.....	16
B. Materi Penelitian.....	16
C. Prosedur Penelitian	17
D. Metode Pelaksanaan.....	18
E. Rancangan Percobaan.....	21
F. Parameter yang diamati	21
G. Analisis Data	27
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	28
A. Kualitas Semen Segar	28
B. Kualitas Semen Sebelum dan Setelah Kriopreservasi	31
C. Pola Pergerakan Semen Sapi Bali Setelah Kriopreservasi	37
BAB IV KESIMPULAN DAN SARAN	46
A. Kesimpulan	46
B. Saran	46
DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN	
RIWAYAT HIDUP	

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Kualitas Semen Segar Sapi Bali.....	28
Tabel 2. Motilitas Semen Sebelum dan Setelah Thawing.....	32
Tabel 3. Viabilitas Semen Sebelum dan Setelah Thawing.....	33
Tabel 4. MPU Semen Sebelum dan Setelah Thawing.....	35
Tabel 5. TAU Semen Sebelum dan Setelah Thawing.....	36
Tabel 6. Kecepatan Pergerakan Spermatozoa.....	39
Tabel 7. Jarak Tempuh Pergerakan Spermatozoa.....	43

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Kerangka Pikir Penelitian.....	15
Gambar 2. Prosedur Kerja Kriopreservasi dan Evaluasi Semen Cair.....	17
Gambar 3. Pola Pergerakan Spermatozoa 1.....	26
Gambar 4. Pola Pergerakan Spermatozoa 2.....	27

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Dokumentasi.....	59
Lampiran 2. Hasil Olah Data SPSS.....	61

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Inseminasi buatan (IB) merupakan salah satu contoh penerapan bioteknologi reproduksi yang dapat mempermudah distribusi semen dari pejantan unggul sehingga mampu meningkatkan produksi dan mutu genetik ternak (Novita et al., 2019). Salah satu tahapan penting dalam IB yaitu pengawetan semen, hasil semen yang diawetkan disebut semen beku. Keuntungan utama dari semen beku yaitu dapat mengatasi hambatan waktu dan jarak sehingga dapat digunakan kapan dan dimana saja (Herdis et al., 1998). Keberhasilan IB sangat bergantung pada kualitas semen beku yang akan digunakan (Garner and Hafez., 2016). Kualitas semen pada setiap bangsa dan masing-masing ternak berbeda-beda yang dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya genetik, umur, bangsa ternak dan variasi individu (Cotter et al., 2005).

Proses kriopreservasi semen (pembekuan) menggunakan suhu yang sangat rendah (-196°C), menyebabkan pembentukan kristal es dan perubahan konsentrasi elektrolit intraseluler pada spermatozoa. Kualitas sperma dapat dipertahankan daya fertilitasnya dengan memperhatikan konsentrasi krioprotektan, waktu equilibrasi dan suhu yang digunakan untuk penyimpanan (Seshoka et al., 2016). Pemilihan jenis pengencer yang tepat merupakan salah satu cara untuk mengurangi kerusakan akibat adanya proses kriopreservasi (Surachman et al., 2006). Pengencer semen harus mengandung sumber nutrisi, *buffer*, anti *cold shock*, antibiotik dan krioprotektan yang dapat melindungi spermatozoa dalam proses pendinginan dan pembekuan (Susilawati., 2013).

Pengencer umum yang paling sering digunakan yaitu Andromed, Andromed adalah salah satu pengencer komersial yang praktis karena siap pakai, mengandung lesitin nabati dari ekstrak kacang kedelai, phospholipid, Tris (*hydroxymethyl*) aminomethane, asam sitrat, fruktosa, gliserol, lesitin, *tylosine tart rat*, *getnamycin sulfat*, *spectinomycin* dan *lincomycin* (Minitub., 2001). Pengencer Andromed termasuk mahal dan merupakan produk impor sehingga perlu mencari pengencer alternatif yang lebih baik dari Andromed yaitu dengan memanfaatkan bahan lokal yang harganya lebih terjangkau serta dapat mempertahankan kualitas spermatozoa agar tetap baik (Fika et al., 2014) Selain Andromed, pengencer yang umum digunakan yaitu Tris dan Asam Sitrat, karena memiliki peran sebagai larutan penyangga (*buffer*) (Susilawati dan Yekti., 2018).

Pengencer Tris Aminomethan mengandung zat yang diperlukan oleh spermatozoa sebagai sumber makanannya seperti fruktosa, laktosa, rafinosa, asam-asam amino dan vitamin (Devita et al., 2015). Selain itu, proses kriopreservasi melibatkan krioprotektan di dalam larutan pengencernya. Krioprotektan berdasarkan daya permeabilitas membrannya terbagi menjadi dua jenis. Krioprotektan intraseluler merupakan suatu zat yang mampu keluar masuk membran sel dan memiliki ukuran molekul kecil contohnya gliserol, *dimethylsulfoside* (DMSO), *ethylene glikol* (EG) dan *propanediol*. Gliserol ($C_3H_5(OH)_3$) merupakan krioprotektan intraseluler yang paling banyak digunakan untuk kriopreservasi semen (Leboeuf et al., 2000).

Krioprotektan ekstraseluler memiliki ukuran molekul besar sehingga tidak dapat menembus membran sel contohnya fruktosa, sukrosa, protein, lipoprotein, kuning telur dan susu (Herdis and Darmawan., 2013). Kuning telur merupakan krioprotektan yang paling umum digunakan dalam campuran pengencer berbasis Tris hingga 20% (Aires et al., 2003). Kandungan lesitin pada kuning telur bersifat sebagai membran *coating* dan dapat mempertahankan konfigurasi *phospholipid*

bilayer yang merupakan penyusun utama dari membran spermatozoa. Namun, kuning telur memiliki risiko kontaminasi mikroorganisme seperti bakteri dan jamur (Gil et al., 2003). Menurut Bousseau et al (1998) pengencer dengan kuning telur terkontaminasi oleh bakteri atau mycoplasma sebanyak 10-60 CFU/ml Froning (1987) melaporkan bahwa telur ayam ras mengandung *Salmonella typhimurium* mencapai 67,09 CFU/ml. Selain itu penggunaan kuning telur dapat menyebabkan kekeruhan pada bahan pengencer semen.

Pemilihan bahan pengencer yang baik dapat berpengaruh bagi kehidupan spermatozoa sehingga dapat menghasilkan kualitas semen yang berkualitas. Bahan pengencer yang dapat sebagai pengencer yaitu kacang kedelai, sebab pengencer yang berasal dari kedelai ini dapat menghindari kontaminasi mikroorganisme. Selain itu, kedelai dapat berperan sebagai krioprotektan nabati yang termasuk pada krioprotektan ekstraseluler yang bebas patogen. Secara alamiah, kedelai mengandung lesitin sebanyak 1,48 – 3,08% dan dapat menjadi sumber lesitin pada bahan pengencer yang baik (Aku et al., 2007). Hasil penelitian (Thun et al., 2002) melaporkan bahwa lesitin pada kedelai sama persis dengan lesitin yang ada pada kuning telur, mampu melindungi semen dari cekaman dingin (*cold shock*) dan mampu mengurangi stress oksidative selama kriopreservasi (Ogbuewu et al., 2010). Hasil penelitian White (1993) dan Toelihere (1985) menyebutkan lesitin pada pengencer akan berikatan dengan membran plasma, dan mempertahankan integritas membran plasma pada saat kriopreservasi.

Penggunaan lesitin kedelai dalam pengencer telah banyak dicobakan pada beberapa jenis ternak untuk kriopreservasi. Hasil penelitian (Veerasingam and Kusumawati, 2018) melaporkan persentase motilitas tertinggi post thawing semen sapi PO dengan penambahan 2% lesitin kedelai yaitu $73,6 \pm 2,1\%$, dibandingkan dengan penggunaan kuning telur yaitu hanya $69.0 \pm 2.27\%$. (Xin Yi

and Kusumawati., 2018) melaporkan persentase viabilitas tertinggi dengan lesitin kedelai 2% yaitu $71,4 \pm 4,5\%$ dibandingkan pada kuning telur $65,54 \pm 5,82\%$. Penelitian tentang berapa konsentrasi lesitin kedelai yang optimal dalam pengencer Tris untuk Sapi Bali dan pengaruhnya dalam mempertahankan kualitas semen selama kriopreservasi masih sangat terbatas. Oleh karena itu dibuatnya penelitian dengan judul “Pengaruh Penambahan Lesitin Kedelai Pada Pengencer Tris Dalam Mempertahankan Kualitas Semen Sapi Bali Selama Kriopreservasi”.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, dapat dirumuskan permasalahan penelitian yaitu : Apakah penambahan lesitin kedelai dengan level berbeda dapat mempertahankan kualitas semen Sapi Bali selama kriopreservasi ?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh berbagai level pengencer lesitin terhadap kualitas semen sapi Bali selama kriopreservasi.

D. Kegunaan Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan tambahan informasi serta bahan kajian bagi ilmu pengetahuan dan teknologi. Bagi peternak sapi atau inseminator agar dapat menggunakan bahan pengencer alternatif dari lesitin kedelai yang dapat meningkatkan kualitas dari usaha peternakan sapi dan meningkatkan nilai ekonomi bagi masyarakat.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Kriopreservasi dan Krioprotektan

Secara teoritis, kriopreservasi berasal dari kata *krio* yang berarti beku, dan *preservasi* yang berarti penyimpanan pada temperature rendah. Prinsip utama kriopreservasi adalah pengeluaran air dalam sel spermatozoa atau dikenal dengan proses dehidrasi sebelum terjadi kriopreservasi intraseluler. Bila tidak terjadi proses dehidrasi maka akan terbentuk kristal es dalam jumlah yang besar, namun jika terjadi dehidrasi yang hebat maka sel akan krenasi yang berujung pada kematian (*plasmolysis*) (Supriatna and Pasaribu, 1992).

Kriopreservasi pada sperma adalah suatu proses untuk membekukan dengan tujuan untuk memperpanjang masa simpan sperma. Manfaat kriopreservasi ini adalah untuk menyediakan semen yang akan digunakan dalam inseminasi buatan (Westfalewicz et al., 2015). Manfaat lain dari kriopreservasi semen diantaranya yaitu efisiensi penggunaan pejantan, inseminasi buatan tidak dibatasi waktu dan tempat, dapat memudahkan transportasi, lebih ekonomis, dan mempunyai daya simpan yang Panjang (Layek et al., 2016). Prosesnya meliputi: a) dehidrasi, yaitu proses pergantian cairan sitoplasma dengan larutan krioprotektan melalui proses difusi kedalam sel; b) kriopreservasi, tahapan pada saat sel atau organ dan larutan berada dalam nitrogen cair (-196 °C) dan membentuk padatan; c) *warming*, yaitu tahap terjadinya perubahan kembali bentuk padatan menjadi cair ; serta d) rehidrasi, yaitu proses masuknya kembali air ke dalam sel untuk menggantikan kedudukan krioprotektan (Valojerdi et al., 2009).

Krioprotektan merupakan zat kimia non-elektrolit yang berperan dalam mengurangi pengaruh mematikan selama kriopreservasi, diantaranya pengaruh

larutan pengencer maupun adanya pembentukan kristal es sehingga viabilitas sel dapat dipertahankan (Supriatna and Pasaribu., 1992). Penambahan krioprotektan bertujuan untuk memelihara keutuhan membran sel serta menyebabkan tekanan osmotik pada media sehingga cairan di dalam sel dapat mengalir keluar dan dehidrasi sel dapat terjadi (Kostaman et al., 2011). Pada proses kriopreservasi maka diperlukan krioprotektan yang dapat mengatasi atau mengurangi kejutan dingin dan pembentukan kristal es.

Berdasarkan sifat-sifat fisik kimia dan daya permeabilitas membran maka krioprotektan dibagi atas dua kelompok, yaitu krioprotektan intraseluler yang dapat keluar masuk membran karena memiliki berat molekul kecil sehingga bersifat permeabel dan krioprotektan ekstraseluler tidak dapat keluar masuk membran karena memiliki berat molekul besar sehingga bersifat non permeable (Ariantie et al., 2013). Contoh krioprotektan intraseluler seperti gliserol ($C_3H_5(OH)_3$), dimethylsulfoxide (DMSO) ($(CH_3)_2SO$), Etilen glikol (EG) ($C_2H_6O_2$), dan 2 propanediol ($C_3H_8O_2$). Sedangkan contoh krioprotektan ekstraseluler seperti fruktosa ($C_6H_{12}O_6$), sukrosa ($C_{12}H_{22}O_{11}$), maltosa, protein, lipoprotein, kuning telur, serum darah dan susu (Herdis and Darmawan., 2013).

B. Faktor yang Mempengaruhi Kriopreservasi Sperma

Proses kriopreservasi (Kriopreservasi) akan membuat semen di bekukan pada suhu yang sangat rendah ($-196^{\circ}C$) membentuk kristal – kristal es, terjadi perubahan konsentrasi elektrolit intraseluler yang menyebabkan terjadinya kerusakan pada sel spermatozoa. Pemilihan jenis pengencer yang tepat akan mengurangi kerusakan akibat proses kriopreservasi (Surachman et al., 2006). Hal inilah yang mengharuskan komposisi pengencer yang digunakan harus bisa melindungi sperma sesuai dengan penjelasan Pamungkas and Krisnan (2017) bahwa komposisi bahan pengencer harus mempertahankan sperma dari kejutan

dingin, motilitas, kemampuan fertilitas, menjaga kestabilan membrane plasma maupun menjamin ketersediaan substrat energi untuk spermatozoa. Lebih lanjut di jelaskan oleh (Futino et al., 2010) bahwa fungsi pengencer yaitu untuk mengurangi efek negative perubahan pH dan osmolaritas, mencegah pertumbuhan bakteri, dan melindungi sel-sel spermatozoa dari kerusakan yang disebabkan oleh proses pendinginan, kriopreservasi, serta pencairan kembali.

Baust et al., (2009) telah merangkum faktor-faktor yang mempengaruhi sel sperma selama tahap pendinginan dan kriopreservasi diantaranya : 1) selama pendinginan, sel sperma banyak teradapat efek berbahaya seperti gangguan metabolisme, ketidakseimbangan ionic, aktivasi protease, asidosis seluler, kekurangan energi, transisi fase membrane, destabilisasi sitoskeleton, dan produksi radikal bebas atau spesies oksigen reaktif (ROS), 2) selama proses kriopreservasi, spermatozoa cenderung mengalami efek merugikan berupa pembentukan kristal es, hiperosmolaritas, perubahan volume sel, dan denaturasi protein.

Watson (2000) menyebutkan sejumlah faktor yang mempengaruhi keberhasilan teknik kriopreservasi diantaranya

- 1) Kecepatan kriopreservasi, dimana jika kriopreservasi terlalu lambat maka air akan banyak keluar dari sel dan akan terjadi dehidrasi. Sedangkan jika terlalu cepat maka akan terbentuk kristal es yang halus didalam sel dan cenderung membentuk kristal es yang besar serta mengakibatkan kerusakan bahkan kematian sel (Parks and Graham., 1992);
- 2) Jenis dan konsentrasi krioprotektan, krioprotektan merupakan zat kimia non elektrolit yang berperan untuk mengurangi dan mematikan selama kriopreservasi berupa laruta kristal es untuk mempertahankan viabilitas sel. Berdasarkan sifat-sifat fisikokimia dan daya permeabilitas membran, krioprotektan dibagi menjadi dua kelompok, yaitu (1) krioprotektan

intraseluler, merupakan membran yang dapat keluar masuk dan memiliki bobot molekul lebih kecil sehingga bersifat permeable (contoh: gliserol, etilen glikol, propanadiol), dan (2) krioprotektan ekstraseluler, merupakan sel yang tidak dapat keluar masuk membran karena memiliki bobot molekul lebih besar sehingga bersifat non permeatif (contoh: protein, sukrosa, manosa, rafinosa, kuning telur, susu) (Supriatna and Pasaribu., 1992)

C. Tinjauan Umum Pengencer

Pengencer semen merupakan bahan-bahan yang digunakan untuk mempertahankan dan melindungi spermatozoa selama penyimpanan agar dapat digunakan dalam proses IB. Pengencer yang digunakan harus memiliki syarat-syarat tertentu untuk menjamin proses metabolisme dan respirasi spermatozoa tetap berlangsung dengan baik. Komponen yang harus dimiliki oleh pengencer adalah berupa larutan dengan isotonik (280-310 mOsm/kg), kemampuan sebagai buffer (untuk mengatur pH), melindungi dari *cold shock*, sebagai sumber energi, mampu mengontrol kontaminasi mikroba, memberikan perlindungan selama kriopreservasi dan thawing serta mempertahankan kesuburan spermatozoa (Raheja et al., 2018).

Bahan pengencer adalah campuran dari berbagai macam bahan yang dapat mempertahankan kualitas spermatozoa pada semen hewan. Syarat yang harus ada di dalam pengencer adalah bahan tidak bersifat toksik, isotonis, mengandung unsur yang memiliki sifat fisik dan kimiawinya hamper sama dengan semen segar, bisa mempertahankan fertilitas spermatozoa, mengandung buffer dan sebagai sumber energi, serta menghambat pertumbuhan bakteri (Susilawati., 2014). Bahan-bahan yang umum digunakan sebagai pengencer terdiri atas bahan kimia seperti larutan NaCl, KCl, Tris, asam sitrat, laktosa, fruktosa, antibiotik, susu skim dan bahan-bahan pengencer alami seperti air

kelapa, sari wortel, sari buah tomat, kuning telur, madu, filtrat jambu biji dan lain sebagainya (Malik dkk., 2017; A. Marawali dkk., 2019; Sumadiasa dkk., 2015; Yendraliza dkk., 2019).

Pengencer dengan Tris aminometan merupakan pengencer yang sangat umum digunakan untuk pengenceran sapi Bali, baik untuk semen cair maupun semen beku. Tris aminomethane merupakan *buffer* karena memiliki kemampuan sebagai penyangga yang baik dengan tingkat toksisitas yang rendah meskipun dalam konsentrasi yang tinggi. Pengencer berbahan dasar Tris diketahui kemampuannya dalam memelihara daya hidup spermatozoa sapi (Van Wagtendonk-De Leeuw et al., 2000). Bahan lain yang perlu ditambahkan pada pengencer ini adalah bahan anti *cold shock*. Kuning telur atau kacang kedelai merupakan bahan anti *cold shock* yang umum ditambahkan pada pengencer semen (Aboagla and Terada., 2004)

D. Tinjauan Umum Kedelai

Tanaman kedelai (*Glycine max L. merrill*) merupakan salah satu tanaman yang tergolong dalam famili leguminosa (kacang – kacang). Tanaman kedelai berbentuk semak pendek setinggi 30 – 100 cm. Tanaman kedelai memiliki buah berbentuk polong dan bijinya berbentuk lonjong (Suprapti., 2003) .Tanaman kedelai adalah tanaman semusim yang penanamannya biasa pada musim kemarau karena tidak memerlukan banyak air. Sistematika tanaman kedelai menurut (Acquaah., 2008) adalah sebagai berikut :

Kerajaan : *Plantae*
Divisi : *Magnoliphyta*
Kelas : *Magnoliopsida*
Subkelas : *Rosidae*
Ordo : *Fabales*

Famili : *Fabaceae*
Genus : *Glycine*
Spesies : *Glycine max (L) Merrill.*

Kedelai atau nama latinnya (*Glycine max L. Merrill*) adalah salah satu komoditas tanaman pangan nabati yang banyak diminati oleh masyarakat. Alasan kenapa kedelai diminati yaitu karena di dalam biji kedelai terdapat zat gizi yang tinggi terutama protein dengan kualitas yang mendekati daging hewan. Di antara semua kacang-kacangan, kadar protein dari kedelai adalah yang paling tinggi (Rukmana dan Yuniarsih., 1996). Tanaman kedelai dianggap sebagai sumber utama minyak oleh masyarakat global, hal ini karena nilai gizi dan kepentingan komersialnya (Singh et al., 2019). Budidaya kedelai telah dimulai di Asia tepat 5000 tahun yang lalu, pertama di Cina dan kemudian diikuti oleh Jepang. Kemudian dibawa ke Eropa pada abad ke-18 dan selanjutnya ke Amerika Serikat pada abad ke-19 (Valliyodan et al., 2016). Karena kedelai adalah sumber minyak nabati dan protein yang sangat baik, sehingga telah menjadi tanaman yang penting secara ekonomi di seluruh dunia (Almazmomi & Alharbi., 2019).

E. Kedelai Sebagai Pengencer

Pengencer yang bukan berasal dari produk hewani yaitu yang berasal dari produk nabati salah satunya adalah kedelai. Bahan yang berasal dari tanaman dapat terformulasikan dengan baik dan bebas pathogen. Kedelai mengandung *Low Density Lipoprotein* (LDL) dalam jumlah besar yang disebut lesitin kedelai, disebut mirip dengan lesitin kuning telur, dan juga mengandung asam-asam lemak seperti asam stearate, oleat, dan palmitat yang memiliki potensi untuk melindungi membran plasma selama kriopreservasi (Chaudhari et al., 2015).

Kedelai merupakan salah satu bahan yang di manfaatkan sebagai pengencer dan memiliki kandungan nutrisi diantaranya seperti protein, mineral, lemak dan karbohidrat dimana komponen itu juga yang dibutuhkan oleh spermatozoa, selain itu mempunyai kandungan lipoprotein dan lesitin yang dapat melindungi spermatozoa dari *cold shock* (Rezki et al., 2016). Dalam beberapa penelitian menyebutkan bahwa kandungan lesitin yang ada pada kedelai dapat menjadi alternatif untuk pengencer menggantikan kuning telur, karena dapat mengurangi kontaminasi bakteri dan memiliki hasil yang sama atau bahkan lebih unggul dari kuning telur (Kmenta et al., 2011; Zhao et al., 2021).

Kedelai mengandung setidaknya 1,49% sampai 3,08% lesitin, lebih tinggi dibanding dengan kacang biasa yang hanya mengandung 1,11%. Lesitin sendiri merupakan pelindung membran bagi spermatozoa yang mengandung phospholipid, lesitin dapat ditemukan di semua sel bersama dengan cephalin membentuk phospholipid bilayer. Tanpa lesitin dan fosfolipid lainnya, sel tidak akan bisa menjaga strukturnya dan bisa hancur/larut karena pengaruh lingkungannya (Rezki et al., 2016).

Senyawa yang terkandung dalam kedelai yaitu lesitin ($C_{42}H_{80}NO_8P$), dapat menggantikan peran lesitin di dalam kuning telur yang efektif yang berasal dari non-hewani. Berdasarkan asalnya lesitin kedelai merupakan campuran alami dari *phosphatidyl choline* dan beberapa asam lemak seperti stearate, oleat, dan palmitat yang dapat memberikan stabilitas structural pada membrane sel sperma (Oke et al., 2010). Lesitin kedelai memiliki massa molar 758.1 g/mol, titik leleh 236-237°C dan densitas 1.0305 g/cm³, pH 6.6.

Pengencer yang berasal dari nabati dapat menjadi alternatif untuk substitusi pengencer yang berasal dari hewani dan lebih menjanjikan. Lesitin dari kedelai telah diteliti sebagai pengencer dan ketahanannya pada beberapa hewan ternak seperti kuda (Aurich et al., 2007), sapi jantan (El-Sisy et al., 2016; Rezki et

al., 2016), anjing (Beccaglia et al., 2009; Kmenta et al., 2011; Nguyen et al., 2019), domba (Immelda et al., 2019; Zhao et al., 2021), dan kambing (Yodmingkwan et al., 2016; Fadhil et al., 2021).

F. Penggunaan Lesitin Kedelai untuk Kriopreservasi

Hasil penelitian (El-Sisy et al., 2016) penambahan lesitin kedelai dalam pengencer tris dengan konsentrasi berbeda (0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 dan 4.0) setelah thawing pada semen sapi, dihasilkan kualitas semen yang diantaranya ada motilitas tertinggi pada 1% yaitu $56,00 \pm 1,00\%$, viabilitas tertinggi pada 2% yaitu $78,60 \pm 0,55\%$, abnormalitas terendah pada 1% yaitu $19,00 \pm 0,29\%$, dan membran integritas tertinggi pada 1% yaitu $72,20 \pm 1,76\%$. Disimpulkan bahwa penambahan lesitin kedelai 1% sampai dengan 1,5% dapat menggantikan penggunaan kuning telur sebagai krioprotektan dalam pengencer.

Hasil penelitian Xin Yi and Kusumawati (2018) menggunakan konsentrasi lesitin kedelai yang berbeda (1%, 1,5% dan 2%), persentase viabilitas yang tertinggi pada konsentrasi 2% dengan rata-rata $71,4 \pm 4,5\%$ dibandingkan dengan lesitin kuning telur yaitu hanya $65,54 \pm 5,82\%$. Pada penelitian yang dilakukan oleh Veerasingam dan Kusumawati (2018) penambahan lesitin kedelai dengan konsentrasi berbeda menghasilkan nilai motilitas tertinggi pada konsentrasi 2% yaitu $73,6 \pm 2,1\%$ dibandingkan dengan kontrol pada lesitin kuning telur yaitu $69,0 \pm 2,27\%$. Pada kedua penelitian ini disimpulkan konsentrasi lesitin kedelai terbaik yaitu 2% karena dapat mempertahankan kualitas semen sapi Ongole setelah thawing.

G. Kerangka Pikir

Pengembangan dan peningkatan kualitas pejantan unggul untuk pembibitan telah dilakukan dengan salah satu cara yaitu melakukan inseminasi buatan (IB). Keberhasilan IB dapat ditentukan oleh kualitas semen yang

digunakan, semen yang digunakan untuk proses IB perlu di encerkan terlebih dahulu. Semen punya sifat sukar mempertahankan hidup lebih dari 24 jam tanpa tambahan nutrisi yang berasal dari bahan pengencer karena sangat berperan penting dalam melindungi spermatozoa. Salah satu tahapan penting dalam IB adalah pengawetan, baik dalam tujuan penyimpanan jangka pendek (preservasi) maupun penyimpanan jangka panjang / kriopreservasi (kriopreservasi).

Proses kriopreservasi dan pencairan kembali (*thawing*) dapat mengakibatkan perubahan biologis dan fungsional pada spermatozoa. Faktor utama yang dapat menurunkan kualitas spermatozoa selama proses kriopreservasi yaitu adanya kejutan dingin (*cold shock*), perubahan intraselular akibat pengeluaran air yang berkaitan dengan pembentukan kristal es, peroksida lipid, dan faktor antibeku pada plasma semen. Hal yang sama disebutkan oleh (Paulenz et al., 2005) yaitu beberapa kerusakan yang terjadi pada spermatozoa selama proses kriopreservasi diantaranya yaitu 1) kerusakan mekanis yang ditandai oleh kerusakan organel sitoplasma, 2) konsentrasi larutan menjadi toksik akibat dehidrasi dari suspensi media baik intra maupun ekstraseluler, serta 3) perubahan fisik maupun antaranya presipitasi, denaturasi, koagulasi protein, disosiasi ion bahkan kehilangan sifat-sifat absorpsi atau pengikat air.

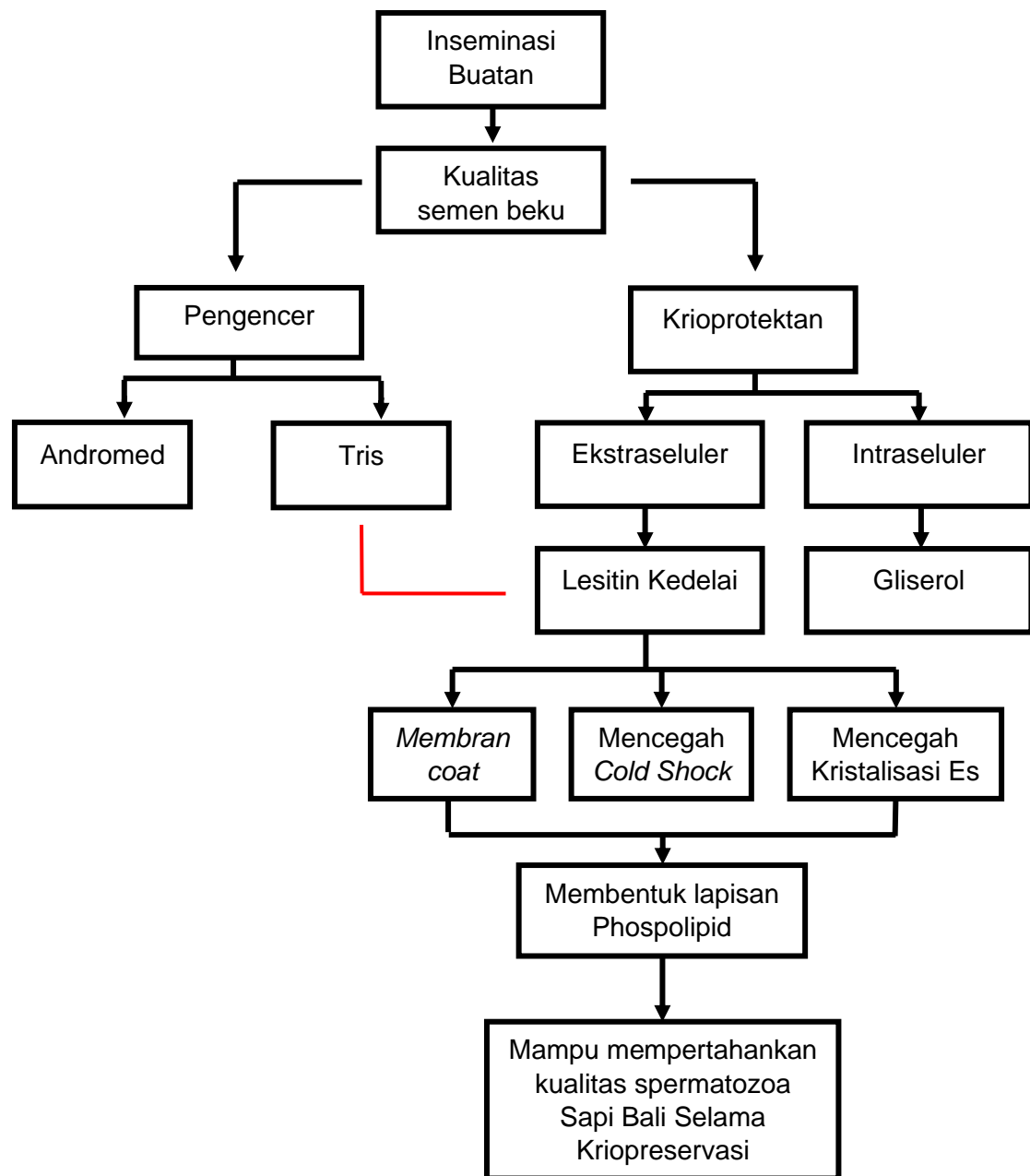
Media yang dapat membantu kriopreservasi yaitu pengencer, karena fungsinya sebagai pelindung sperma saat di bekukan sampai di cairkan kembali. Komposisi bahan pengencer yang digunakan untuk kriopreservasi semen harus mampu melindungi spermatozoa dari kejutan dingin, mempertahankan motilitas dan kemampuan fertilitas spermatozoa, serta menjaga kestabilan membran plasma dan ketersediaan substrat energi untuk spermatozoa. Salah satu komponen bahan pengencer yang umum digunakan adalah kuning telur. Kandungan lesitin kuning telur yang bersifat sebagai membran *coating* dan dapat

mempertahankan dan melindungi membran spermatozoa pada saat pendinginan dan kriopreservasi.

Pengencer komersial seperti Andromed yang berupa cairan yang mengandung lesitin sebesar 6.76 g/100 ml yang berasal dari ekstrak kacang kedelai. Pengencer ini mengandung protein, karbohidrat, mineral (natrium, kalsium, kalium, magnesium, klorida, dan fosfor), asam sitrat, gliserol, lemak dan *glyceryl phosphoryl choline* (GPC) (Ervandi et al., 2013).

Pengencer buatan yang berasal dari kuning telur dan susu skim yang umum digunakan selama ini untuk pengenceran semen kurang di rekomendasikan karena memungkinkan kontaminasi oleh mikroba serta dalam beberapa penelitian sebelumnya disebutkan bahwa kuning telur sebagai pengencer dapat menurunkan viabilitas dan integritas akrosom pada spermatozoa di beberapa spesies termasuk domba. Untuk mengatasi hal ini maka hal yang dapat dilakukan yaitu mengganti bahan pengencer yang sebelumnya berasal dari hewani menjadi bahan yang berasal dari nabati yaitu lesitin kedelai dari kacang kedelai.

Kedelai telah lama diteliti dan memiliki potensi untuk menggantikan kuning telur sebagai pengencer. Kedelai memiliki kecenderungan untuk terkontaminasi oleh bakteri lebih kecil dari kuning telur, mampu menekan stress oksidatif, dan mengandung bahan yang mirip dengan lesitin yang ada pada kuning telur. Mekanisme kerja lesitin dalam mempertahankan kualitas spermatozoa yaitu, lesitin pada pengencer akan berikatan dengan membran (White., 1993).



Gambar 1. Kerangka Pikir Penelitian

BAB III MATERI DAN METODE

A. Waktu dan Tempat Penelitian

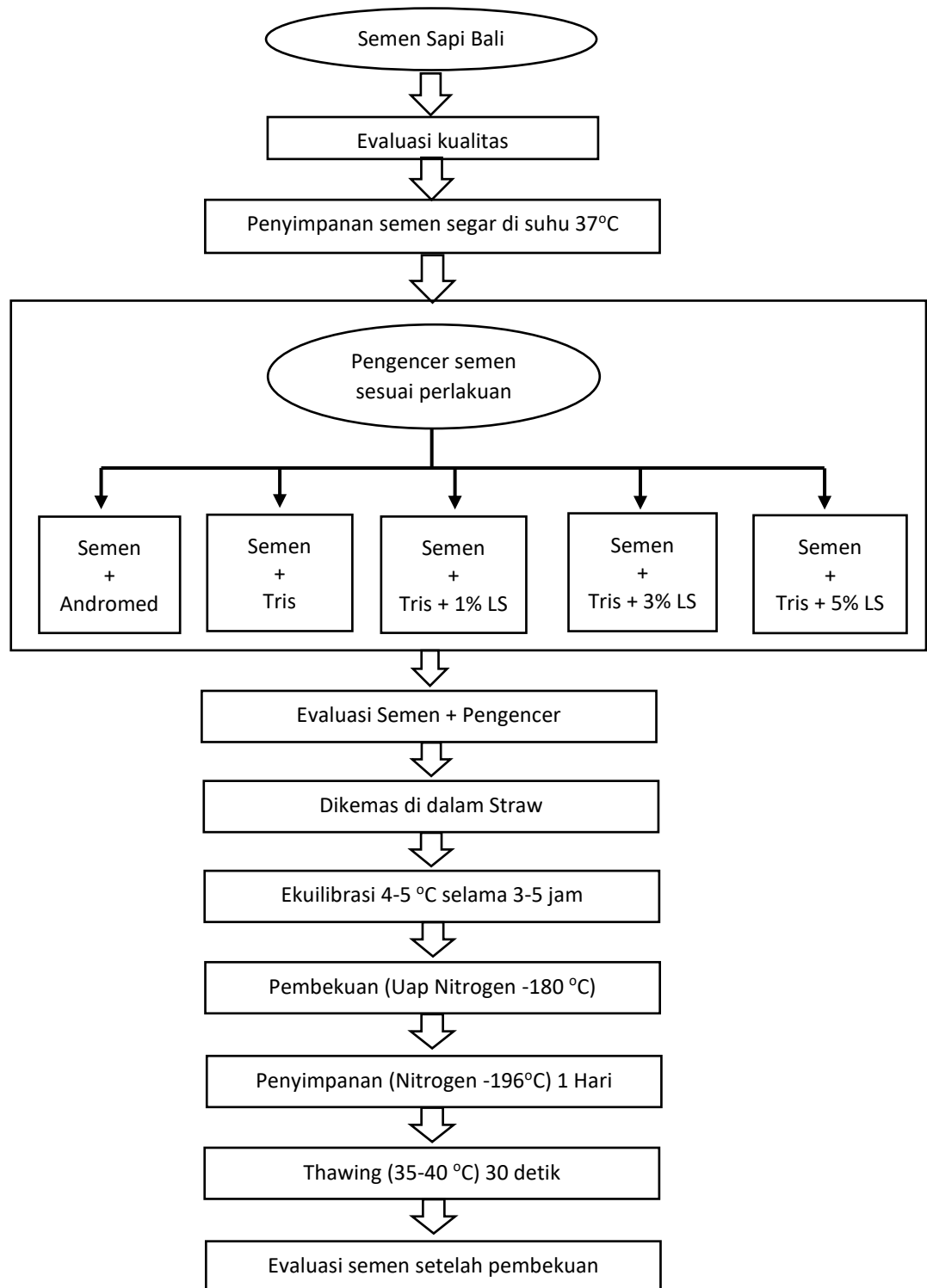
Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus - September 2023, bertempat di *Integrated Farming System* Kelurahan Samata, Kecamatan Somba Opu, Kabupaten Gowa dan di Laboratorium Processing Semen, Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin, Makassar.

B. Materi Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah vagina buatan, tabung skala, termos, ember, label, pulpen, tabung reaksi 10 ml, tabung ukur, gelas ukur, vortex, oven, CASA (*Computer Assisted Sperm Analysis*), mikroskop trinokuler, timbangan analitik, mikropipet skala 0.5-1000 μ l, pinset, skala pH, *cover glass*, *object glass*, *coolbox*, spatula, kertas pH, label, straw 0,25 ml, bunsen, pinset, tissue, gunting, rak tabung, straw, heamacytometer, kontainer dan sentrifuge.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah air hangat 50°C – 60°C, semen pejantan sapi Bali sebanyak 1 ekor berumur 6 tahun, berat sapi Bali \pm 250 kg, vaselin, tissue, aquabidest, Andromed produksi Minitub Germany, bubuk lesitin kedelai produksi Bakti Food Salatiga Jawa Tengah, tris amenathan, asam sitrat, fruktosa, penisilin, streptomisin, gliserol, larutan NaCl 0,9%, larutan eosin 2%, alkohol 70%, natrium sitrat, formalin, bubuk lesitin kedelai, dan larutan nitrogen cair.

C. Prosedur Penelitian



Gambar 2. Prosedur kerja kriopreservasi dan evaluasi semen cair

D. Metode Pelaksanaan

Penampungan Semen

Penampungan semen Sapi Bali berdasarkan Varasofiari et al (2013) yang dilakukan pada saat pagi hari dan sebanyak 1-2 kali dalam seminggu, terlebih dahulu membersihkan ternak pejantan, setelah itu menyiapkan ternak betina sebagai pemacek yang di ikat pada kendang jepit. Selanjutnya menyiapkan air hangat dengan suhu 50-70 °C, kemudian menyiapkan vagina buatan yang telah di bersihkan dan mengisi bagian katup dengan air hangat sampai penuh. Mengoleskan vaselin/lubrican di sela vagina buatan, selanjutnya membawa pejantan kepada betina agar libido pejantan meningkat dan mau menaiki betina. Ketika pejantan telah mengeluarkan penis dan menaiki betina, lalu vagina buatan di masukkan ke penis pejantan kemudian semen akan tertampung pada tabung semen. Selanjutnya segera menutup tabung dengan aluminium foil dan tutup dengan rapat agar keadaan semen terjaga, setelah itu dibawa ke laboratorium untuk selanjutnya di evaluasi.

Pembuatan Pengencer Tris

Pengencer dasar yang digunakan yaitu Tris yang terdiri Tris Aminomethane 3.634 gr, glukosa 0.75 gr, asam sitrat 1.99 gr, gliserol 6 %, penisilin dan streptomycin 0.1 gr dilarutkan dalam aquabidest sebanyak 100 ml.

Pembuatan Pengencer Lesitin Kedelai

Pengencer lesitin kedelai terbuat dari bubuk lesitin kedelai komersil. Dibuat berdasarkan perlakuan, yaitu untuk 1% mengandung 1 g, untuk 3% mengandung 3 gr, dan 5% mengandung 5 gr lesitin kedelai yang masing-masing dilarutkan menggunakan aquabidest 100 ml, setelah itu dipanaskan pada suhu 100°C selama 15 menit, dilanjutkan dengan sentrifugasi selama 5 menit dengan

kecepatan 1500 rpm. Hasil sentrifugasi kemudian diambil supernatannya dan di tambahkan ke dalam pengencer Tris sesuai perlakuan.

Pembuatan Pengencer Andromed

Pengencer yang digunakan didalam penelitian ini yaitu pengencer komersil Andromed, pengencer ini sudah banyak digunakan karena kandungan dan keberhasilannya dalam mempertahankan kualitas sperma dengan baik dibanding pengencer lainnya. Berdasarkan (Mardiana., 2017) yang menyatakan bahwa kandungan Andromed terdiri dari aquadest, fruktosa, gliserol, asam sitrat, buffer fosfolipid dan antibiotik. Andromed akan di encerkan terlebih dahulu dengan aquadest 1:4 untuk dapat digunakan sebagai pengencer semen.

Pembuatan Larutan Host (*Hypoosmotic Swelling Test*)

Keutuhan membran plasma diuji dengan teknik *Hypoosmotic Swelling Test* (HOS Test) sesuai dengan metode baku yang dikembangkan oleh (Jeyendran and Zaneveld., 1986). Larutannya terbuat dari 2,7 gr fruktosa yang dilarutkan kedalam 100 ml aquadest dan 1,47 gr natrium sitrat yang dilarutkan juga kedalam 100 ml aquadest. Kemudian kedua larutan tersebut dicampur hingga diperoleh larutan hipoosmotik sebanyak 200 ml. kemudian sebanyak 3,5 ml larutan hipoosmotik dicampurkan dengan 0,5 ml semen cair. Campuran tadi diinkubasikan dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 30 menit (Arifiantini et al., 1999). Spermatozoa yang mengalami kerusakan membran akan ditandai dengan ekor spermatozoa yang melingkar atau menggembung. Jumlah spermatozoa yang diamati minimal 200 sel pda 10 sudut pandang yang berbeda (Nofa et al., 2017).

Pembuatan Larutan Formasaline

Larutan Formasaline adalah larutan yang digunakan untuk pengamatan Tudung Akrosom Utuh (TAU). Larutan formalin 1% dibuat dengan cara mencampurkan 1 ml formalin dengan 99 ml aquabidest, sehingga volumenya mencapai 100 ml. Lalu, ditambahkan dengan 100 ml NaCl fisiologi sehingga menjadi larutan Formasaline (Priyanto et al., 2015). Berdasarkan Cahyani et al (2020) pengujian tudung akrosom utuh dengan cara mencampurkan semen dengan larutan formasaline dan semen kedalam tabung dengan perbandingan 1:4, kemudian dibiarkan beberapa saat kemudian diamati. Spermatozoa yang memiliki tudung akrosom yang utuh akan ditandai dengan adanya tudung akrosom yang berwarna gelap.

Metode Kriopreservasi

Filling dan Sealing

Semen yang telah diencerkan dapat langsung di lakukan *filling* dan *sealing* yaitu proses untuk pengisian semen didalam straw ukuran 0,25 ml dan dijepit untuk mengunci straw yang dilakukan didalam *cool top* yang bersuhu 5°C.

Ekulibrasi / Pendinginan

Selanjutnya straw dimasukkan kedalam lemari es dengan suhu 5 °C untuk ekulibrasi yang bertujuan untuk menyesuaikan kondisi semen sebelum kriopreservasi dalam N2 cair dan kematian spermatozoa dapat dikurangi. Waktu ekulibrasi dilakukan selama 3-5 jam.

Freezing / Kriopreservasi Semen

Proses freezing/kriopreservasi merupakan proses menurunkan suhu secara bertahap sebelum masuk kedalam N2 cair. Kriopreservasi yang terdiri dari beberapa tahapan yaitu pertama menyusun straw yang telah dikemas diatas rak yang berisi cairan N2 sampai suhunya mencapai -140°C selama 10 menit.

Kemudian straw segera dimasukkan kedalam goblet dan di turunkan sedikit demi sedikit agar suhunya menurun menjadi -180°C dan selanjutnya diturunkan sampai dasar kontainer (-196°C). kemudian kontainer ditutup.

Thawing Semen

Setelah kriopreservasi semen selama 1 hari selanjutnya dilakukan *thawing* / pencairan kembali yaitu dengan cara mengambil straw dari kontainer melalui goblet, mencelupkan straw kedalam air hangat yang telah diatur suhunya sekitar $35-40^{\circ}\text{C}$ selama 30 detik dan dievaluasi (Wagelie et al., 1982)

E. Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang di rancang dengan 5 (lima) perlakuan. Perlakuan pada penelitian ini terdiri dari:

K1 = Andromed (Kontrol Positif)

K2 = Tris tanpa Lesitin Kedelai (Kontrol Negatif)

P1 = Tris + 1 % Lesitin Kedelai

P2 = Tris + 3 % Lesitin Kedelai

P3 = Tris + 5 % Lesitin Kedelai

Jumlah pengulangan pada penelitian ini adalah 4 (empat). Pengulangan merupakan jumlah penampungan semen yang dilakukan sekali dalam seminggu, sehingga sampel yang akan dievaluasi yaitu sebanyak 20.

F. Parameter yang diamati

Parameter yang diamati pada penelitian ini terbagi tiga kelompok (semen segar, semen setelah pengenceran dan semen setelah kriopreservasi). Dimana, parameter pada semen segar meliputi warna, bau, volume, pH, konsistensi, konsentrasi, motilitas, dan viabilitas. Sedangkan parameter yang diamati setelah pengenceran dan kriopreservasi meliputi motilitas, viabilitas, membran plasma

utuh, tudung akrosom utuh, dan pola pergerakan. Untuk penjelasan dari masing-masing parameter adalah sebagai berikut:

1. Warna

M. Toelihere (1993) menyatakan warna semen pada umumnya seperti susu atau krem keputih-putihan dan kekuning-kuningan akibat pengaruh pigmen riboflavin yang dibawa oleh satu gen autosomal resesif. Warna, konsistensi, gerakan massa, dan konsentrasi mempunyai kaitan satu sama lain, karena warna semen ditentukan oleh konsentrasi sperma, bila warna semakin pudar maka konsentrasi spermatozoa rendah dan konsistensi encer (Kostaman dan Utama., 2006).

2. Bau

Bau semen sapi yaitu khas semen dan menunjukkan bahwa semen tersebut normal dan tidak terdapat kontaminasi sehingga dapat dilakukan prosesing semen (Pratiwi et al., 2004). Menurut (Lestari et al., 2014) bau khas spermin menunjukkan bahwa semen yang diejakulasi dalam keadaan normal dan tidak terdapat kontaminasi. Bau busuk bisa terjadi apabila semen mengandung nanah yang disebabkan oleh adanya infeksi organ reproduksi jantan (Kartasudjana., 2001). Bau semen yang menyengat sangat tidak diharapkan karena berhubungan dengan kandungan bakteri yang terkandung dalam semen tersebut (Arifiantini., 2012).

3. Volume

Volume semen adalah banyaknya semen (ml) yang diejakulasikan oleh seekor ternak. Volume semen berbeda-beda antar ternak (Arifiantini., 2012). Hal ini dipengaruhi, antara lain oleh umur sapi, besar tubuh, status kesehatan, status reproduksi, kualitas makanan, dan frekuensi penampungan. Selain itu, teknik dan metode penampungan serta persiapan

alat penampungan akan mempengaruhi volume semen yang dihasilkan (Saili., 1999).

4. Derajat Keasaman (pH)

Derajat keasaman (pH) diukur dengan cara mengambil sedikit semen segar menggunakan ose dan diletakkan pada kertas lakmus, selanjutnya dilihat pH semen dengan menggunakan pH *indicator paper* atau kertas pH, pH normal semen 6,4-7,8 (Garner and Hafez., 2008). Namun, dapat juga menggunakan pH meter dengan cara mencelupkan alat sensor pH ke dalam larutan yang akan diamati. Menurut (Toelihere., 1993) metabolisme spermatozoa dalam keadaan anaerobik akan menghasilkan asam laktat yang tertimbun dan meninggikan derajat keasaman atau menurunkan pH larutan

5. Konsistensi

Konsistensi semen adalah derajat kekentalan semen dapat diperiksa dengan cara menggoyangkan tabung yang berisi semen. Semen yang baik, derajat kekentalannya hampir sama atau sedikit lebih kental dari susu, sedangkan semen yang jelek, baik warna maupun kekentalannya sama dengan air buah (Hafez., 2000). Semen dengan konsistensi kental akan mempunyai konsentrasi spermatozoa yang lebih tinggi dibandingkan dengan semen encer (Lestari et al., 2014).

6. Konsentrasi

Konsentrasi adalah jumlah spermatozoa dalam satu ml semen. Perhitungan konsentrasi spermatozoa menggunakan alat *spektrofotometer*, yaitu alat yang berbasis penyerapan cahaya dari sampel. Konsentrasi spermatozoa dinyatakan dengan satuan juta/ml spermatozoa (Saputra et al., 2017). Pengamatan dilakukan dengan mencampurkan 3,5 ml aquabidest dengan 35 μ semen yang ingin diukur di dalam sebuah kuvet.

7. Motilitas

Motilitas diukur dengan menggunakan mikroskop CASA dengan pembesaran 400 kali. Pengujian motilitas spermatozoa yang umum dilakukan saat ini adalah pengujian secara visual mikroskopik menggunakan mikroskop *Computer Assisted Semen Analysis* (CASA) (Sarastina et al., 2007). Sampel dicampurkan yang telah dicairkan lalu di ulas diatas preparat atau objek glass. Dan motilitas ditandai dengan persentase yang telah di ukur oleh CASA, menggunakan 6 sudut pandang dan di rata-ratakan kemudian dicatat berapa persen rata-rata sperma yang motil/bergerak.

Motilitas individu spermatozoa adalah tingkat pergerakan individual spermatozoa secara progresif dan merupakan salah satu indikator penting dalam menentukan fertilitas seekor pejantan (Manehat et al., 2021). Penilaian dilakukan dengan skor 0-5 sebagai berikut:

1. Nilai 0, jika spermatozoa immotile atau tidak bergerak sama sekali
2. Nilai 1, jika Gerakan spermatozoa berputar di tempat
3. Nilai 2, jika Gerakan spermatozoa melingkar, kurang dari 50% bergerak progresif dan tidak ada gelombang
4. Nilai 3, jika 50%-80% spermatozoa bergerak progresif dan menghasilkan Gerakan massa
5. Nilai 5, jika Gerakan spermatozoa yang sangat progresif, membentuk gelombang yang sangat cepat dan menunjukkan 100% sperma motil.

8. Viabilitas

Viabilitas merupakan persentase hidup spermatozoa, perhitungan viabilitas dapat dilakukan dengan cara memberi warna pada semen. Pewarnaan semen ini menggunakan larutan eosin 2% yang telah di campur dengan 10 semen lalu di ulas diatas preparat dan dikeringkan. Pengamatan

dilakukan menggunakan mikroskop trinokuler dengan pembesaran 400 kali, spermatozoa yang mati akan menyerap warna merah dari eosin hal ini dikarenakan terjadinya kerusakan pada dinding sel spermatozoa (Susilawati and Wahyuningsih., 2013), perhitungan viabilitas ini sebanyak 200 sel dengan rumus :

$$\text{Persentase spermatozoa hidup} : \frac{\text{Jumlah spermatozoa hidup}}{\text{Sperma yang diamati}} \times 100 \%$$

9. Membran Integritas (MPU)

Membran integritas yang menggunakan *hypo-osmotic swelling test* (HOS-Test) bertujuan untuk mengetahui kualitas membran sperma. Inkubasi selama 30 menit di suhu 37°C menggunakan 100µl semen yang telah diencerkan dan dicampurkan dengan larutan HOS. Spermatozoa dengan ekor melingkar menandakan bahwa membran plasmanya utuh, sedangkan spermatozoa yang ekornya lurus menandakan membran plasmanya rusak (Cahyani et al., 2020). Menggunakan rumus :

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

10. Tudung Akrosom Utuh (TAU)

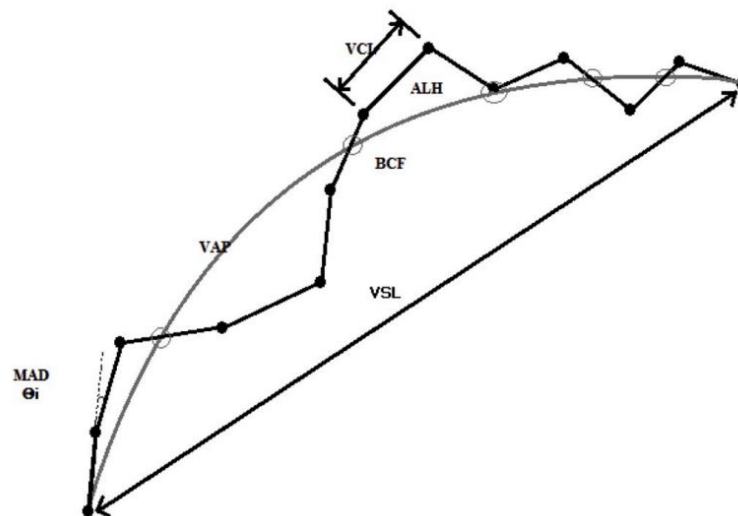
Pengamatan Tudung Akrosom Utuh (TAU) dapat dilakukan dengan cara mencampurkan semen yang akan diuji dengan larutan formosaline dengan perbandingan 1 : 4 ke dalam tabung minitube. Lalu, didiamkan selama 5 menit dan ditetaskan diatas object glass lalu ditutup dengan cover glass. Pemeriksaan dilakukan dengan mikroskop Trinokuler menggunakan pembesaran 400x sebanyak minimal 200 sel spermatozoa. Tudung akrosom utuh ditandai dengan ujung kepala yang berwarna hitam. Menggunakan perhitungan yaitu:

$$\% \text{ TAU} = \frac{\text{jumlah spermatozoa yang ujung kepala menghitam}}{\text{jumlah spermatozoa yang dihitung}} 100\%$$

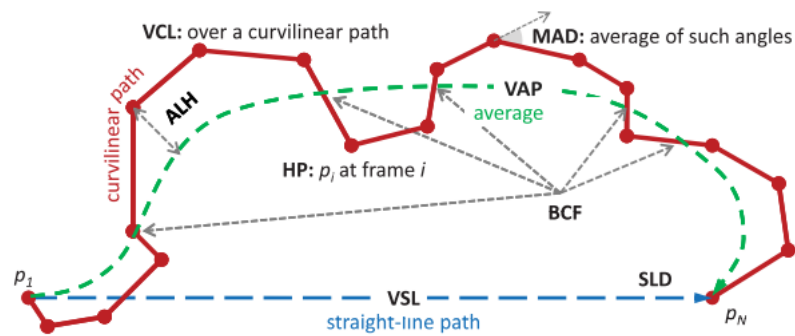
11. Pola Pergerakan

Pengamatan terhadap pola pergerakan spermatozoa dilakukan menggunakan *Computer Assisted Sperm Analysis (CASA)* dengan cara meneteskan semen diatas preparat dan ditutup dengan cover glass. Pada pola pergerakan spermatozoa akan menunjukkan pola gerak dan ataupun kecepatan spermatozoa, serta kriteria gerak lainnya yang lebih spesifik.

Adapun pola gerak spermatozoa meliputi: DAP= *Distance Average Path* , DCL= *Distance Curvilinier* , DSL= *Distance Straight Line* , VAP= *Velocity Average Path* , VCL= *Velocity Curvilinier* , VSL= *Velocity Straight Line* , STR= *Straightness* , (VSL/VAP) LIN= *Linearity* , (VSL/VCL) WOB= *Wobble* , (VAP/VCL), ALH= *Amplitude of Lateral Head Displacement* , BCF= *Beat Cross Frequency*.



Gambar 3. Pola Pergerakan (Şavkay et al., 2020)



Gambar 4. Pola Pergerakan (Duffy dkk., 2015).

G. Analisis Data

Hasil pengamatan kualitas spermatozoa terbagi dua yaitu kualitatif dan kuantitatif. Data yang bersifat kualitatif seperti warna, bau dan konsistensi yang hanya diperoleh dari evaluasi semen segar, akan dinilai secara deskriptif sesuai dengan ketentuan yang telah ada. Sedangkan pada data kuantitatif yang meliputi konsentrasi, pH, motilitas, viabilitas, membran plasma utuh, tudung akrosom utuh dan pola pergerakan akan ditabulasi menggunakan Microsoft excel. Data kemudian dianalisis menggunakan analisis Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan model matematika sebagai berikut :

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + \varepsilon_{ijk}$$

Y_{ijk} = Nilai pengamatan pada perlakuan ke i dan ulangan ke j

μ = Nilai Tengah Umum

T_i = Pengaruh Perlakuan Ke i

ε_{ijk} = Pengaruh Galat (Kesalahan) Penelitian Pada Perlakuan Ke i Dan Ulangan Ke j

i = Banyaknya Perlakuan

j = Banyaknya Ulangan

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Kualitas Semen Segar

Semen segar yang telah diperoleh dari proses penampungan dan dilanjutkan pemeriksaan kualitas secara makroskopis dan mikroskopis merupakan penentu penting sebelum pengolahan semen lebih lanjut. Hasil evaluasi semen segar sapi Bali dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kualitas Semen Segar Sapi Bali

Pengamatan	Parameter	Rataan
Makroskopis	Volume (ml) (\pm SD)	4,00 \pm 1,35
	Bau	Khas
	Warna	Putih Krem
	Konsistensi	Agak Cair - Kental
	pH (\pm SD)	6,5 \pm 0,00
Mikroskopis	Konsentrasi (10^6 /ml) (\pm SD)	3759,5 \pm 1608,42
	Motilitas Individu (%) (\pm SD)	87,87 \pm 3,97
	Motilitas Progresif (%) (\pm SD)	71,17 \pm 4,73
	Viabilitas (%) (\pm SD)	82,25 \pm 5,18
	MPU (%) (\pm SD)	85,50 \pm 5,12
	TAU (%) (\pm SD)	87,25 \pm 2,50

Uji Makroskopis

Berdasarkan data pada Tabel 1, volume semen rata-rata sapi Bali dalam pengamatan makroskopis mencapai 4,00 ml. Hasil menunjukkan bahwa volume semen sapi Bali dalam penelitian ini masih dalam kisaran yang normal, penyebab perbedaan volume semen dari hasil penelitian ini yaitu manajemen ternak dalam pemberian pakan dan usia ternak. Hasil penelitian ini masih cukup rendah dibandingkan (Wijayanti et al., 2023), yang mencatat volume sebesar 6,28 ml. Volume semen ini hampir mendekati temuan yang dilaporkan oleh Mujahidurrohman et al (2023) sebesar 4,92 ml dan lebih tinggi dari temuan yang dilaporkan oleh Leo et al (2023) sebesar 3,20 ml. Perbedaan volume semen saat penampungan dapat dipengaruhi oleh sejumlah faktor, seperti perbedaan dalam

ukuran tubuh, kualitas keturunan, iklim, usia, jenis pakan, frekuensi penampungan, dan faktor-faktor lainnya (Afiati dan Said., 2013).

Bau semen yang dihasilkan adalah aroma khas. Menurut (Inonie et al., 2016), semen normal secara umum memiliki aroma khas, yang dapat mengindikasikan ketiadaan kerusakan pada semen tersebut. Sebagai tambahan, warna semen sapi Bali dalam penelitian ini, pada rata-rata, adalah putih krem. Hasil ini sejalan dengan temuan penelitian (Mukminat et al., 2014) yang mencatat bahwa pada sapi yang sehat, semen umumnya memiliki warna putih atau krem keputih-putihan.

Konsistensi semen yang diamati pada sampel semen sapi Bali selama penelitian ini yaitu termasuk kategori kental. Konsistensi semen ini memiliki keterkaitan dengan konsentrasi sperma dan warna semen. Dalam hal konsistensi yang kurang kental, konsentrasi sperma dapat menurun, dan warna semen akan menjadi semakin pucat. Sebaliknya, pada semen dengan konsistensi sedang hingga kental, konsentrasi sperma akan cenderung tinggi, yang diikuti oleh warna semen yang lebih mendekati putih susu atau putih krem (Umami et al., 2015). Menurut (Kumar et al., 2015) konsentrasi spermatozoa yang kental atau berwarna krem memiliki 1.000-3.000 juta spermatozoa/mL sedangkan konsentrasi spermatozoa yang encer memiliki 500-900 juta spermatozoa/mL.

Nilai pH pada semen sapi Bali yang dihasilkan dalam penelitian ini adalah sekitar 6,5. Temuan ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang mencatat bahwa pH semen segar sapi Bali berkisar antara 6,4 hingga 6,5, sebagaimana dilaporkan oleh Tethool et al (2022). Hasil ini hampir serupa dengan temuan Bria et al (2022) yang mencatat pH sekitar 6,51. Sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Susilowati et al (2021), pH semen sapi yang berada dalam kisaran 6,4 hingga 6,8 dianggap sebagai pH normal. Perlu dicatat bahwa derajat keasaman (pH) semen ini memiliki peranan penting karena dapat memengaruhi

viabilitas spermatozoa, sebagaimana yang dinyatakan dalam penelitian oleh (Nyuwita et al., 2015)

Uji Mikroskopis

Berdasarkan data pada Tabel 1, kualitas semen segar sapi Bali dalam pengamatan mikroskopis menunjukkan bahwa konsentrasi spermatozoa rata-rata adalah sekitar 3759,5 juta per mililiter (mL). Hasil ini menunjukkan bahwa konsentrasi spermatozoa pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan beberapa hasil penelitian sebelumnya, seperti yang diperoleh Alçay et al (2019) sekitar 1646 juta/ml. Namun, hasil ini lebih rendah dibandingkan dengan penelitian oleh Tethool et al (2022), yang mencatat konsentrasi sekitar 7404,94 juta/ml. Konsentrasi spermatozoa dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti perkembangan seksual dan kedewasaan, kualitas pakan, kesehatan alat reproduksi, ukuran testis, usia, dan frekuensi ejakulasi pejantan, sebagaimana dijelaskan dalam penelitian oleh Vásquez et al (2003).

Persentase motilitas individu yang dihasilkan dari penampungan semen segar sapi Bali rata-rata mencapai 87,87%. Temuan ini sejalan dengan pernyataan Susilawati (2011) yang mengindikasikan bahwa motilitas semen segar sapi umumnya berada dalam rentang 70-90%. Hal ini menunjukkan bahwa motilitas individu dalam kisaran normal dan memenuhi syarat untuk proses pembekuan semen. Menurut Hapsari et al (2018), proses kriopreservasi akan mengakibatkan penurunan sekitar 20-30% dalam motilitas sapi Bali, sehingga disarankan bahwa setidaknya 60% motilitas pada semen segar diperlukan untuk melanjutkan proses lebih lanjut.

Motilitas progresif yang diperoleh yaitu rata-rata 71,17 %. Hasil penelitian Sarastina et al (2007) menunjukkan rata-rata nilai persentase untuk motilitas progresif pada bangsa Bali, Madura dan Simmental adalah diatas 70%, karena

telah memenuhi syarat untuk dapat di proses lebih lanjut hingga menjadi semen beku. Toelihere (1993) menyatakan bahwa kebanyakan pejantan yang fertil mempunyai 50-80% spermatozoa yang motil aktif progresif.

Viabilitas spermatozoa yang diperoleh adalah sekitar 82,5%. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa angka viabilitas lebih rendah jika dibandingkan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Mujahidurrohman et al (2023) yang mencapai 98,60%, tetapi secara umum, nilai persentase viabilitas tersebut tidak terlalu jauh berbeda dari temuan dalam penelitian oleh Siahaan et al (2012) sekitar 85% dan Blegur et al (2020) sekitar 81,07%. Proses pengenceran hingga menjadi semen beku, viabilitas spermatozoa seharusnya minimal mencapai kisaran 60%-75% spermatozoa yang masih hidup, sesuai dengan panduan yang disebutkan oleh Garner dan Hafez (2000).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perolehan rata-rata Membran Plasma Utuh (MPU) dari semen segar sapi Bali adalah sekitar 85,50%, sementara rata-rata persentase Tudung Akrosom Utuh (TAU) adalah sekitar 87,5%. Nilai persentase MPU semen segar ini hampir serupa dengan hasil rata-rata penelitian yang dilakukan oleh Bebas et al., (2021) yang mencapai sekitar 83,55%, namun masih lebih rendah dibandingkan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Marawali et al (2019), di mana MPU dan TAU semen segar masing-masing mencapai 90,16% dan 90,12%. Berdasarkan evaluasi karakteristik semen sapi Bali secara makroskopis dan mikroskopis, dapat disimpulkan bahwa semen yang telah dikumpulkan memiliki kualitas yang baik dan memenuhi syarat untuk diproses lebih lanjut menjadi semen beku.

B. Kualitas Semen Sebelum dan Setelah Kriopreservasi

Semen segar yang telah memenuhi syarat untuk dilanjutkan pada tahap pengenceran sampai pembekuan selanjutnya akan dilakukan pemeriksaan

kualitas mikroskopis. Semen sapi Bali dengan tambahan lesitin kedelai sebelum dan setelah kriopreservasi dapat dilihat pada tabel dibawah ini:

Tabel 2. Motilitas semen sebelum dan setelah thawing

Parameter	Perlakuan	Pengamatan		
		Sebelum Pembekuan (%)	Setelah Pembekuan (%)	Penurunan (%)
Motilitas	K1	76,55 ± 2,96 ^b	47,00 ± 2,94	29,55%
	K2	70,22 ± 4,67 ^a	39,17 ± 1,39	31,05%
	P1	72,82 ± 5,91 ^{a,b}	48,25 ± 4,52	24,57%
	P2	80,25 ± 4,96 ^c	48,40 ± 4,29	31,85%
	P3	72,15 ± 5,98 ^{a,b}	45,77 ± 3,15	26,38%

^{a,b,c} Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$).

K1 = (Andromed);

K2 = (Tris);

P1 = (Tris Lesitin Kedelai 1%);

P2 = (Tris Lesitin Kedelai 3%);

P3 = (Tris Lesitin Kedelai 5%).

Berdasarkan hasil motilitas pada Tabel 2, dapat diketahui bahwa secara statistik penambahan lesitin kedelai sebelum pembekuan tidak menunjukkan perbedaan yang nyata antar perlakuan dengan Sig 0,083 ($P > 0,05$). Sedangkan, setelah pembekuan menunjukkan adanya pengaruh yang nyata dengan Sig 0,010 ($P < 0,05$). Perlakuan K1, P1, P2 dan P3 berbeda ($P < 0,05$) dengan K2, tetapi jika dibandingkan K1 dengan perlakuan P1, P2, dan P3 hasilnya sama saja atau tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Dari hasil yang didapatkan dapat diketahui bahwa pengaruh penambahan lesitin tidak begitu berpengaruh terhadap motilitas sperma sebelum dan sesudah pembekuan. Perlakuan dengan rata-rata yang nilainya lebih dari K1 adalah P2, baik sebelum dan setelah pembekuan. Berdasarkan penelitian (de Paz et al., 2010) menyatakan pada konsentrasi 2-3,5% lesitin kedelai dapat meningkatkan motilitas semen pasca thawing.

Lesitin kedelai memiliki ukuran partikel berkisar antara 0,1 hingga 1 mikrometer yang dapat mempengaruhi viskositas pengencer. Jika kadar lesitin kedelai terlalu tinggi maka dapat meningkatkan viskositas dan menurunkan pergerakan spermatozoa. Selain itu, viskositas yang tinggi dapat mengganggu

penglihatan mikroskop. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Wu et al (2019) bahwa sperma yang diencerkan dengan lesitin kedelai memiliki ukuran partikel 0,1 hingga 1 mikrometer dapat mempengaruhi viskositas dan kelarutan pada pengencer yang mengakibatkan pergerakan spermatozoa menurun jika dalam konsentrasi yang tinggi.

Kegunaan lesitin kedelai yaitu mampu membantu dalam melindungi membran akibat adanya pengaruh *cold shock* (Qureshi et al., 2014). Adanya efek *cold shock* pada spermatozoa dapat menurunkan aktivitas flagella, jumlah motil mengalami penurunan yang disertai oleh pelepasan enzim (Ogbuewu et al., 2010). Pembentukan kristal es yang terjadi selama proses kriopreservasi menyebabkan pengeluaran enzim intraseluler dan kerusakan pada organel sel seperti lisosom dan mitokondria, sehingga pembentukan energi / metabolisme akan terhenti dan spermatozoa akan berkurang daya motilitasnya (Gazali and Natal Tambing., 2002).

Tabel 3. Viabilitas semen sebelum dan setelah thawing

Parameter	Perlakuan	Pengamatan		
		Sebelum Pembekuan (%)	Setelah Pembekuan (%)	Penurunan (%)
Viabilitas	K1	76,25 ± 5,12	50,00 ± 2,94 ^b	26,25%
	K2	70,50 ± 3,10	44,00 ± 1,41 ^a	26,50%
	P1	72,75 ± 4,99	50,75 ± 3,59 ^b	22,00%
	P2	78,75 ± 4,99	54,00 ± 0,81 ^c	24,75%
	P3	72,50 ± 7,85	48,25 ± 4,11 ^a	24,25%

^{a,b,c} Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$).

K1 = (Andromed);

K2 = (Tris);

P1 = (Tris Lesitin Kedelai 1%);

P2 = (Tris Lesitin Kedelai 3%);

P3 = (Tris Lesitin Kedelai 5%).

Berdasarkan Tabel 3 dapat diketahui bahwa, sebelum pembekuan nilai tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antar perlakuan dengan Sig 0,258 ($P > 0,05$) dan nilai yang dihasilkan cenderung sama. Meskipun pada K2 nilainya cenderung paling rendah diantara perlakuan lainnya namun, tidak begitu

berpengaruh. Setelah pembekuan dapat diketahui adanya perbedaan yang nyata antar perlakuan dengan Sig 0,003 ($P < 0,05$) dan menandakan bahwa ada pengaruh penambahan lesitin kedelai setelah pembekuan. Penambahan lesitin kedelai hingga 5% menghasilkan nilai yang berbeda dengan pengencer tris. Jika dibandingkan dengan pengencer Andromed, tidak berbeda nyata Sig 0,067 ($P > 0,05$) terhadap perlakuan lesitin kedelai 3%. Hal ini menandakan pada parameter viabilitas yang terbaik adalah P2 setelah pembekuan, dengan kualitas yang hampir sama dengan pengencer K1.

Dalam penelitian ini hasil terbaik pada penambahan 3% lesitin kedelai dan menurut hasil penelitian yang di dapatkan (El-Sisy et al., 2016), dimana konsentrasi lesitin yang optimal untuk meningkatkan viabilitas antara 2% hingga 3%. Konsentrasi lesitin kedelai dibawah 2% tidak dapat memberikan perlindungan yang optimal dari proses pembekuan dan pencairan. Selama proses kriopreservasi kerusakan membran sel akibat kehilangan fosfolipid dapat digantikan dengan fosfolipid dari lesitin kedelai sehingga mampu mempertahankan struktur dan fungsi membran pada spermatozoa setelah pembekuan (Graham and Foote., 1987).

Persentase viabilitas akan mengalami penurunan sejalan dengan konsentrasi lesitin kedelai yang meningkat dan dapat menciptakan tekanan osmotik yang berlebih didalam larutan pengencer semen. Menurut hasil penelitian yang dilakukan Van Wagtendonk-De Leeuw et al (2000) dan Moussa et al (2002) bahwa adanya penggunaan lesitin kedelai yang berlebihan di dalam pengencer akan memproduksi endapan partikel yang diikuti dengan peningkatan viskositas dan tekanan osmotik yang mana dapat merusak sel pada sperma serta mengurangi fertilitas.

Tabel 4. MPU semen sebelum dan setelah thawing

Parameter	Perlakuan	Pengamatan		
		Sebelum Pembekuan (%)	Setelah Pembekuan (%)	Penurunan (%)
MPU	K1	82,50 ± 1,29 ^a	50,50 ± 1,29 ^{b,c}	32,00%
	K2	79,50 ± 1,25 ^b	44,25 ± 0,95 ^a	35,25%
	P1	82,50 ± 0,57 ^a	45,42 ± 1,47 ^a	37,08%
	P2	84,25 ± 0,95 ^c	51,80 ± 1,69 ^c	32,45%
	P3	79,69 ± 1,29 ^b	49,72 ± 0,98 ^b	29,97%

^{a,b,c} Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$).

K1 = (Andromed);

K2 = (Tris);

P1 = (Tris Lesitin Kedelai 1%);

P2 = (Tris Lesitin Kedelai 3%);

P3 = (Tris Lesitin Kedelai 5%).

Berdasarkan tabel 4, diperoleh hasil MPU (membran plasma utuh) sebelum pembekuan dengan Sig 0,000 ($P < 0,05$). Perlakuan K1 berbeda nyata dengan perlakuan P2 dan P3 ($P < 0,05$). Setelah pembekuan diperoleh Sig 0,000 ($P < 0,05$) atau berpengaruh nyata antar perlakuan. Perlakuan K1 berbeda nyata dengan K2, P1, P2 dan P3 ($P < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa penambahan lesitin kedelai sebelum dan setelah pembekuan memiliki pengaruh yang nyata terhadap kualitas MPU. Pada parameter MPU P2 adalah yang paling terbaik diantara perlakuan lainnya dengan rata-rata yang tertinggi dibandingkan perlakuan yang lainnya.

Hasil penelitian menunjukkan hasil MPU terbaik pasca thawing adalah P3 yaitu penambahan lesitin kedelai sebanyak 5%. Hal ini disebabkan adanya lesitin kedelai yang mampu mempertahankan membran plasma tetap utuh pasca thawing. Phospholipid pada lesitin kedelai tidak dapat masuk kedalam menembus membran sperma dan menggantikan lapisan lipid yang rusak, tetapi lesitin kedelai berintegrasi dengan membran sperma untuk membentuk lapisan pelindung diluar sehingga mencegah pembentukan kristal es intraselular dan

melindungi membran sperma dari kerusakan mekanik selama proses pembekuan hingga thawing (Quinn et al., 1980).

Penggunaan lesitin kedelai sebagai krioprotektan bekerja dengan dua cara, pertama ia akan membentuk lapisan proteksi dipermukaan spermatozoa (Rehman et al., 2014). Lapisan ini yang kan melindungi plasma membran agar tidak terbentuk es kristal selama masa pembekuan. Kemudian yang kedua, plasma membran akan mengeluarkan phospholipid tersebut dari permukaan dan lesitin kedelai yang akan menggantikan phospholipid yang hilang selama masa pembekuan (Mehdipour et al., 2017). Karena adanya proses pembekuan maka penurunan kualitas sangat mutlak terjadi, maka dari itu perlu di cegah penurunan yang berlebihan salah satunya adalah menggunakan krioprotektan..

Faktor yang menyebabkan penurunan integritas pada membran yaitu pembentukan ROS (*reactive oxygen species*), ROS akan menyerang membran plasma dan selubung lipoprotein dalam dinding sel akan rusak hal ini dapat teratasi dengan penambahan antioksidan. Hasil penelitian (Salmani et al., 2014) menemukan bahwa lesitin kedelai lebih efisien dalam melindungi spermatozoa dari peroksidasi lipid selama kriopreservasi dibandingkan kuning telur sebab kuning telur lebih banyak mengandung asam lemak tidak jenuh. Lesitin kedelai mampu menekan stress oksidatif (Ogbuewu et al., 2010).

Tabel 5. TAU semen sebelum dan sesudah kriopreservasi

Parameter	Perlakuan	Pengamatan		
		Sebelum Pembekuan (%)	Setelah Pembekuan (%)	Penurunan (%)
TAU	K1	84,50 ± 1,70 ^a	49,37 ± 2,10 ^c	35,13%
	K2	81,00 ± 1,82 ^c	41,87 ± 1,73 ^a	39,13%
	P1	83,75 ± 1,25 ^b	46,00 ± 1,52 ^b	37,75%
	P2	84,75 ± 1,29 ^a	52,67 ± 2,26 ^c	32,08%
	P3	81,25 ± 2,21 ^c	49,55 ± 2,67 ^c	31,70%

^{a,b,c} Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata

K1 = (Andromed);

K2 = (Tris);

P1 = (Tris Lesitin Kedelai 1%);

P2 = (Tris Lesitin Kedelai 3%);
P3 = (Tris Lesitin Kedelai 5%).

Berdasarkan Tabel 5, sebelum dibekukan diketahui penambahan lesitin kedelai dapat memberi pengaruh yang nyata terhadap kualitas TAU semen yaitu Sig 0,00 ($P < 0,05$) antar perlakuan. Pengencer K1 berbeda nyata dengan K1, P2, dan P3 ($P < 0,05$). Setelah pembekuan juga menunjukkan pengaruh yang nyata dengan Sig 0,00 ($P < 0,05$) yang menandakan penambahan lesitin kedelai mempengaruhi kualitas TAU. Pengencer K1 berbeda nyata dengan perlakuan P1 dan P2 ($P < 0,05$). Dari hasil uji didapatkan nilai yang tertinggi pada perlakuan P2. Hasil penelitian menunjukkan bahwa adanya penambahan lesitin kedelai hingga konsentrasi 5% pada pengencer tris bisa mempertahankan integritas tudung akrosom pada spermatozoa hasil kriopreservasi.

Konsentrasi lesitin kedelai pada pengencer penting karena adanya lesitin kedelai mampu melindungi tudung akrosom spermatozoa dari kerusakan akibat proses kriopreservasi. Pada penelitian ini diperoleh konsentrasi terbaik dalam mempertahankan tudung akrosom adalah perlakuan P2. Tudung akrosom adalah struktur yang terletak di ujung kepala sperma yang banyak mengandung enzim untuk menembus zona pellucida yaitu lapisan sel telur (Rasul et al., 2001). Proses pembekuan dan pencairan kembali akan menyebabkan kerusakan pada tudung akrosom dan berdampak pada kemampuan sel spermatozoa untuk membuahi sel telur (Arvioges et al., 2021).

Kedelai mengandung fosfolipid sebagai komponen utama dalam fraksi fosfatnya. Komposisi fosfolipid tersebut termasuk fosfatidil kolin sekitar 17,50% hingga 23,00%, fosfatidil etanolamin sekitar 15,00% hingga 20,00%, glikolipid sekitar 13-16%, fosfolipid lainnya sekitar 14-18%, dan trigliserida sekitar 2-4% (Aku et al., 2007). Meskipun belum ada penjelasan yang terperinci mengenai mekanisme kerja lesitin, namun berdasarkan penelitian (Campbell et al., 2002),

fosfolipid cenderung untuk beragregasi dan membentuk agregat yang melindungi komponen hidrofobiknya. Di permukaan sel, fosfolipid membentuk lapisan ganda yang berinteraksi dengan lingkungan air, baik di dalam maupun di luar sel, dan dengan lingkungan sekitarnya. Oleh karena itu, penambahan lesitin dari kedelai ini dapat menjaga integritas selubung lipoprotein sperma dari stres akibat suhu rendah, dan sebagian besar penelitian menyatakan bahwa kualitas sperma dapat dipertahankan melalui penggunaan lesitin kedelai ini.

Pola Pergerakan Spermatozoa Sapi Bali Setelah Kriopreservasi

Pola pergerakan spermatozoa dievaluasi menggunakan CASA yang menunjukkan jarak, kecepatan, serta kriteria gerak lainnya yang lebih spesifik. CASA mengukur parameter kecepatan gerak, rasio kecepatan dan karakteristik ayunan spermatozoa (Gallagher et al., 2019). Pengukuran kinematika spermatozoa berguna untuk prediksi fertilitas spermatozoa, karena keberhasilan proses fertilisasi ditentukan oleh kecepatan dan bentuk pergerakan dari spermatozoa.

Komponen parameter kecepatan spermatozoa menggunakan CASA diantaranya ada VAP, VCL, VSL. Tabel 6 menunjukkan parameter VAP (*Velocity Average Path*) yang merupakan kecepatan spermatozoa dalam satu menit pada lintasan rata-rata alur (Sarastina et al., 2007), diketahui VAP sebelum dan sesudah thawing tidak menunjukkan perbedaan nyata diantara K1, K2, P1, P2 dan P3. Setelah thawing terdapat peningkatan VAP pada perlakuan P3 dengan tambahan lesitin kedelai sebanyak 5% yaitu dari 48,45 $\mu\text{m}/\text{det}$ menjadi 56,73% $\mu\text{m}/\text{det}$ setelah thawing.

Tabel 6. Kecepatan Pergerakan Spermatozoa Sapi Bali Sebelum dan Setelah Thawing

Paramater	Perlakuan	Jenis Pengencer				
		K1	K2	P1	P2	P3
VAP ($\mu\text{m}/\text{det}$)	Sebelum	49,70 \pm	52,71 \pm	50,05 \pm	52,03 \pm	48,45 \pm
	Pembekuan	4,88 ^a	11,11 ^a	11,04 ^a	6,49 ^a	4,50 ^a
	Setelah Thawing	42,07 \pm 2,78 ^a	39,67 \pm 5,22 ^a	50,58 \pm 13,45 ^a	42,53 \pm 5,23 ^a	56,73 \pm 32,13 ^a
VCL ($\mu\text{m}/\text{det}$)	Sebelum	94,81 \pm	91,95 \pm	95,36 \pm	101,57 \pm	86,02 \pm
	Pembekuan	17,62 ^a	17,05 ^a	21,86 ^a	12,51 ^a	14,66 ^a
	Setelah Thawing	76,49 \pm 11,09 ^a	72,73 \pm 4,25 ^a	81,82 \pm 19,50 ^a	87,55 \pm 25,98 ^a	92,95 \pm 36,06 ^a
VSL ($\mu\text{m}/\text{det}$)	Sebelum	49,70 \pm	52,71 \pm	50,05 \pm	52,03 \pm	45,95 \pm
	Pembekuan	4,88 ^a	11,11 ^a	11,04 ^a	6,49 ^a	3,39 ^a
	Setelah Thawing	30,86 \pm 4,38 ^a	28,93 \pm 7,40 ^a	38,34 \pm 12,72 ^a	29,00 \pm 3,27 ^a	46,96 \pm 33,50 ^a
STR % (VSL/VAP)	Sebelum	0,68 \pm	0,41 \pm	0,67 \pm	0,54 \pm	0,70 \pm
	Pembekuan	0,02 ^a	0,06 ^a	0,08 ^a	0,31 ^a	0,02 ^a
	Setelah Thawing	0,73 \pm 0,07 ^a	0,72 \pm 0,09 ^a	0,74 \pm 0,10 ^a	0,69 \pm 0,08 ^a	0,78 \pm 0,10 ^a
LIN % (VSL/VCL)	Sebelum	0,35 \pm	0,41 \pm	0,35 \pm	0,36 \pm	0,38 \pm
	Pembekuan	0,02 ^a	0,60 ^a	0,06 ^a	0,01 ^a	0,05 ^a
	Setelah Thawing	0,41 \pm 0,10 ^{a,b}	0,39 \pm 0,08 ^{a,b}	0,46 \pm 0,09 ^{a,b}	0,35 \pm 0,09 ^a	0,51 \pm 0,09 ^b
WOB % (VAP/VCL)	Sebelum	0,52 \pm	0,55 \pm	0,53 \pm	0,51 \pm	0,38 \pm
	Pembekuan	0,02 ^b	0,07 ^b	0,06 ^b	0,01 ^b	0,05 ^a
	Setelah Thawing	0,56 \pm 0,08 ^a	0,54 \pm 0,04 ^a	0,61 \pm 0,05 ^a	0,50 \pm 0,08 ^a	0,59 \pm 0,12 ^a
ALH (μm)	Sebelum	5,59 \pm	5,31 \pm	5,56 \pm	5,73 \pm	5,24 \pm
	Pembekuan	0,28 ^a	0,38 ^a	0,72 ^a	0,51 ^a	0,42 ^a
	Setelah Thawing	5,20 \pm 0,29 ^a	4,75 \pm 0,98 ^a	6,04 \pm 2,67 ^a	5,02 \pm 0,74 ^a	6,26 \pm 3,69 ^a
BCF (Hz)	Sebelum	21,60 \pm	21,72 \pm	23,50 \pm	20,97 \pm	21,14 \pm
	Pembekuan	2,41 ^a	4,04 ^a	2,31 ^a	1,77 ^a	1,26 ^a
	Setelah Thawing	19,45 \pm 2,63 ^a	23,70 \pm 9,68 ^a	18,94 \pm 4,49 ^a	23,79 \pm 3,52 ^a	22,66 \pm 3,96 ^a

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$).

Keterangan : VAP = Velocity Average Path; VCL = Velocity Curvilinear; VSL = Velocity Straight Line; STR = Straightness (VSL/VAP); LIN = Linearity (VSL/VCL); WOB = Wobble (VAP/VCL); ALH = Amplitude of Lateral Head Displacement; BCF = Beat Cross Frequency. K1 = Andromed; K2 = Tris; P1 = SL 1%; P2 = SL 3%; P3 = SL 5%.

VCL (*Velocity Curve Linear*) merupakan kecepatan spermatozoa dalam satu menit pada lintasan yang melengkung (Sarastina et al., 2007), diketahui VCL rata-rata sebelum dan setelah thawing tidak menunjukkan perbedaan yang nyata diantara K1, K2, P1, P2 dan P3, namun terjadi peningkatan kecepatan

pada perlakuan P3 yaitu dari 86,02 $\mu\text{m}/\text{det}$ menjadi 92,95 $\mu\text{m}/\text{det}$. VSL (*Velocity Straight Linear*) merupakan kecepatan spermatozoa dalam satu menit pada lintasan lurus (Sarastina et al., 2007), diketahui VSL rata-rata sebelum dan setelah thawing menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata diantara K1, K2, P1, P2 dan P3, tetapi terjadi peningkatan kecepatan pada perlakuan P3 yaitu 45,95 $\mu\text{m}/\text{det}$ dari 46,96 $\mu\text{m}/\text{det}$ sedangkan yang perlakuan K1, K2, P1 dan P2 terlihat mengalami penurunan VSL setelah thawing.

Komponen parameter pola renang dari spermatozoa diantaranya ada LIN (*Linearity*) yang merupakan indikator kelurusan lintasan *curve linear* (Ratnawati et al., 2019), diketahui rata-rata LIN yang diperoleh sebelum pembekuan tidak menunjukkan perbedaan yang nyata diantara perlakuan K1, K2, P1, P2 dan P3, sedangkan setelah thawing terdapat perbedaan pada perlakuan P2 0,35 dan P3 0,51. Selama kriopreservasi rata-rata menunjukkan sperma berenang linear yang ditandai dengan $\text{LIN} > 35\%$ *linier* dan $\text{LIN} < 35\%$ *non linier* (Susilawati., 2011). Selanjutnya adalah STR (*Straight*) merupakan indikator kelurusan lintasan rata-ratanya, diketahui rata-rata STR yang diperoleh baik sebelum dan sesudah thawing tidak menunjukkan perbedaan yang nyata diantara perlakuan K1, K2, P1, P2 dan P3, yang tertinggi pada perlakuan P3 yaitu 0,78.

WOB (*Wobble*) yang merupakan pengukuran osilasi lintasan sebenarnya dan mengindikasikan kuatnya goyangan spermatozoa selama satu detik (Ratnawati et al., 2019), diketahui hasil rata-rata WOB sebelum pembekuan tidak terdapat perbedaan diantara perlakuan K1, K2, P1 dan P2 sedangkan berbeda nyata dengan P3. Setelah thawing tidak terdapat perbedaan yang nyata pada tiap perlakuan K1, K2, P1, P2 dan P3, namun nilai WOB yang mengalami kenaikan yang cukup tinggi sebelum dan setelah thawing ditunjukkan pada perlakuan P3.

Parameter pola pergerakan kepala spermatozoa diantaranya ada ALH (*Amplitude of Lateral Head Displacement*) yang menunjukkan lebar rata-rata dari osilasi (getaran atau vibrasi) kepala spermatozoa saat berenang (Kathiravan et al., 2011), diperoleh rata-rata ALH yang menunjukkan peningkatan setelah thawing pada perlakuan P3 yaitu 5,24 μm dan 6,26 μm . ALH merupakan indikator untuk mengetahui aktivitas dari flagel sperma, dikatakan hiperaktif apabila ALH 7 μm (Mortimer et al., 1998). BCF (*Beat Cross Frequency*) yang merupakan frekuensi (banyaknya) lintasan spermatozoa melalui rata-rata alur per detik (Sarastina et al., 2007), diperoleh rata-rata nilai BCF yang menunjukkan peningkatan setelah thawing pada perlakuan P2 yaitu 20,97 Hz dan 23,79 Hz.

Pengencer dengan andromed (K1) menunjukkan spermatozoa dengan kecepatan yang rata-rata rendah ditandai dengan (VAP dan VSL medium velocity) bergerak dengan lintasan curve (VCL tinggi) serta cukup progresif (STR, WOB tinggi dan LIN, ALH, BCF rendah). Pengencer tris tanpa tambahan lesitin kedelai (K2) mengindikasikan pergerakan spermatozoa kurang aktif dan tidak progresif (VCL, VSL, VAP dan ALH yang paling rendah diantara pengencer lainnya terutama setelah thawing).

Pengencer tris dengan lesitin kedelai 1% (P1) menunjukkan pergerakan spermatozoa yang aktif dan progresif (VAP, VCL, ALH tinggi dan VSL rendah) dengan arah pergerakan cenderung linear (LIN, STR, dan WOB cukup tinggi). Pengencer tris dengan lesitin kedelai 3% (P2) menunjukkan pergerakan spermatozoa setelah thawing cukup aktif (VAP, VSL, ALH cukup rendah dibandingkan P1 dan sedikit lebih dari K2), meskipun cukup aktif tetap tidak begitu progresif (LIN, WOB, STR cukup rendah serta BCF yang tinggi). Sedangkan pada pengencer tris dengan lesitin kedelai 5% (P3) menunjukkan spermatozoa yang bergerak cepat dan progresif ditandai dengan VCL, VAP, VSL

yang lebih tinggi diantara perlakuan lainnya ,spermatozoa bergerak cenderung lurus (LIN, STR, WOB dan BCF yang secara signifikan tinggi).

Hasil penelitian (Brown et al., 1988) melaporkan bahwa nilai VAP, VSL dan VCL lebih baik digunakan untuk fertilisasi jika $> 50\%$. Spermatozoa dikatakan hiperaktif dapat dilihat pada parameter VCL, LIN dan ALH. Spermatozoa dikategorikan hiperaktif apabila mempunyai batas nilai VCL $> 100 \mu\text{m}/\text{det}$, LIN $< 50\%$ dan ALH $> 5 \mu\text{m}/\text{det}$ (Ripp et al., 2003). Penelitian (Shojaei et al., 2012) menjelaskan bahwa penentuan spermatozoa mengalami perubahan gerakan menjadi hiperaktif motilitas ketika nilai ALH $> 7 \mu\text{m}$, LIN $< 65\%$ dan VCL $> 80 \mu\text{m}$.

Pada penelitian ini didapatkan hasil bahwa penambahan lesitin kedelai pada konsentrasi 5% lebih baik dalam mempertahankan kualitas semen sapi Bali selama kriopreservasi. Pada konsentrasi lesitin kedelai 5%, lesitin kedelai mampu memberikan perlindungan yang optimal terhadap membran plasma, sehingga kerusakan spermatozoa dapat ditekan yang menyebabkan motilitas progresif spermatozoa dapat meningkat setelah pembekuan. Disebutkan (Yang et al., 2012) bahwa lesitin kedelai memiliki sifat amifilik yaitu memiliki bagian hidrofilik dan hipofilik yang mana akan membentuk lapisan film di sekitar membrane plasma dan melindungi kerusakan akibat proses pembekuan. Secara umum, spermatozoa dengan motilitas progresif yang tinggi lebih memungkinkan untuk membuahi sel telur.

Tabel 7. Jarak Tempuh Pergerakan Spermatozoa Sapi Bali Sebelum dan Setelah Thawing

Parameter	Perlakuan	Jenis Pengencer				
		K1	K2	P1	P2	P3
DAP (μm)	Sebelum	20,42 \pm	21,21 \pm	20,38 \pm	20,87 \pm	18,69 \pm
	Pembekuan	2,00 ^a	3,89 ^a	4,18 ^a	3,00 ^a	1,71 ^a
	Setelah Thawing	17,57 \pm 1,47 ^a	15,45 \pm 1,95 ^a	20,26 \pm 5,82 ^a	16,84 \pm 2,19 ^a	22,92 \pm 11,82 ^a
DSL (μm)	Sebelum	13,84 \pm	15,54 \pm	13,72 \pm	14,52 \pm	13,10 \pm
	Pembekuan	1,98 ^a	3,97 ^a	3,73 ^a	1,83 ^a	1,00 ^a
	Setelah Thawing	12,86 \pm 2,38 ^a	11,23 \pm 2,80 ^a	15,25 \pm 5,17 ^a	11,53 \pm 1,35 ^a	18,78 \pm 12,74 ^a
DCL (μm)	Sebelum	39,34 \pm	38,91 \pm	38,42 \pm	41,26 \pm	35,39 \pm
	Pembekuan	2,80 ^a	3,04 ^a	9,05 ^a	5,60 ^a	5,47 ^a
	Setelah Thawing	31,94 \pm 3,71 ^a	28,71 \pm 0,96 ^a	33,68 \pm 8,83 ^a	34,95 \pm 10,48 ^a	38,72 \pm 13,14 ^a

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$).

Keterangan : DAP (Distance Curve-Line); DSL (Distance Straight-Line); DAP (Distance Average Path. K1 = Andromed; K2 = Tris; P1 = SL 1%; P2 = SL 3%; P3 = SL 5%.

Komponen parameter yang mengukur jarak tempuh spermatozoa diantaranya ada DAP, DSL dan DCL. Parameter DAP (*Distance Average Path*) merupakan jarak yang dapat ditempuh oleh spermatozoa dalam satu menit pada lintasan rata-rata alur (Ratnawati et al., 2019), pada hasil penelitian yang diperoleh rata-rata DAP sebelum dan setelah thawing tidak menunjukkan perbedaan yang nyata antar perlakuan K1, K2, P1, P2 dan P3. Perlakuan yang menunjukkan peningkatan rata-rata DAP setelah thawing pada P3 yaitu dari 18,69 μm ke 22,92 μm .

DSL (*Distance Straight-Line*) merupakan jarak tempuh oleh spermatozoa dalam satu menit pada lintasan yang lurus (Ratnawati et al., 2019), diperoleh rata-rata DSL tidak menunjukkan perbedaan nyata baik sebelum maupun setelah thawing diantara ke lima jenis pengencer K1, K2, P1, P2 dan P3. Perlakuan yang mengalami peningkatan nilai DSL sebelum dan setelah thawing yaitu ada pada P1 dan P3. Pada P1 yang sebelumnya 13,72 μm menjadi 15,25 μm , sedangkan P3 yang sebelumnya 13,10 μm menjadi 18,78 μm .

DCL (*Distance Curve-Line*) merupakan jarak tempuh spermatozoa dalam satu menit pada lintasan yang melengkung (Ratnawati et al., 2019), dari hasil yang ada pada tabel 7 diperoleh nilai rata-rata DCL sebelum dan setelah thawing tidak menunjukkan perbedaan yang nyata antar pengencer K1, K2 P1, P2 dan P3. Berdasarkan Massányi et al., (2008) sperma yang dikatakan progresif apabila memiliki nilai DAP : 19,23 – 24,44 m/s, DCL: 37,43 – 47,20 m/s dan DSL 14,27 – 18 92 m/s. Hasil yang diperoleh dari penelitian ini dari beberapa perlakuan K1, K2, P1, P2 dan P3 pada beberapa parameter memiliki rata-rata nilai yang normal dan menandakan kualitas yang baik terutama setelah thawing.

Preparasi sampel juga akan mempengaruhi hasil dari penilaian CASA. Menurut Contri et al., (2010) yang mempengaruhi diantaranya ada teknik dalam *pipetting*, *mixing*, dan *sampling*. Faktor penyimpanan dalam waktu yang lama dapat menyebabkan spermatozoa menumpuk pada bagian bawah dan diperlukan *mixing* sebelum melakukan analisa. Resiko yang terjadi apabila tidak melakukan *mixing* dengan baik maka sampel spermatozoa akan lebih padat atau lebih rendah. Spermatozoa yang terlalu padat menyebabkan pergerakannya sulit ditangkap oleh CASA dengan optimal. Teknik *pipetting* (pengambilan sampel dengan pipet) penting diperhatikan karena pengambilan sampel dengan pipet lebih optimal apabila diberikan jarak beberapa menit sebelum *pipetting*. Setelah sampel telah homogen, lalu dilakukan *pipetting* dengan titik tertentu, hal ini untuk menghindari konsentrasi spermatozoa yang terlalu padat dan preparasi sampel harus divalidasi secara periodic untuk menjamin data yang dihasilkan (Amann and Waberski., 2014).

Motilitas dan pola pergerakan tidak dapat dijadikan acuan utama untuk menilai keberhasilan fertilisasi seekor ternak pejantan (Holt et al., 1985), namun spermatozoa dengan pergerakan yang lamban sangat sulit untuk mencapai

oviduk, maka dari itu spermatozoa dengan motilitas progresif yang baik memiliki kesempatan yang besar untuk mencapai ampulla bagian dari oviduk dan melakukan fertilisasi (Muiño et al., 2008).

Dalam hasil penelitian ini, dapat diketahui bahwa penambahan lesitin kedelai dalam pengencer mampu menyamai kualitas sperma yang dihasilkan dari pengencer andromed. Berdasarkan pola pergerakan sperma, diketahui bahwa sperma sapi Bali termasuk dalam kategori hiperaktif pada perlakuan P3 yang menunjukkan peningkatan VCL dan ALH. Ada 5 parameter yang umum digunakan untuk mengkategorikan hiperaktivasi sperma namun yang paling berpengaruh antara lain peningkatan VCL dan ALH, karena parameter inilah yang menentukan keberhasilan sperma dalam fertilisasi (Marquez and Suarez., 2004).

BAB IV KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Konsentrasi lesitin kedelai 1%, 3% dan 5%, ketiganya menunjukkan hasil yang baik dalam mempertahankan kualitas semen selama kriopreservasi. Penggunaan 3% lesitin kedelai adalah yang terbaik diantara 1% dan 5%.

B. Saran

Berdasarkan hasil penelitian disarankan untuk menggunakan kedelai yang telah di ekstrak, tujuannya agar dapat menghasilkan kualitas semen yang lebih baik lagi, perlu studi lebih lanjut mengenai berapa level optimum dari lesitin kedelai serta tingkat fertilitasnya pasca kriopreservasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Aboagla EME, Terada T. 2004. Effects of the supplementation of trehalose extender containing egg yolk with sodium dodecyl sulfate on the freezability of goat spermatozoa. *Theriogenology*. 62(5):809–818. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2003.12.003>.
- Acquaah G. 2008. *Principles of Genetics and Plant Breeding*.
- Afiati F, Said IS. 2013. *Pembibitan Tenrak dengan Inseminasi Buatan*. Penebar Swadaya Grup.
- Aires VA, Hinsch KD, Mueller-Schloesser F, Bogner K, Mueller-Schloesser S, Hinsch E. 2003. In vitro and in vivo comparison of egg yolk-based and soybean lecithin-based extenders for cryopreservation of bovine semen. *Theriogenology*. 60(2):269–279. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(02\)01369-9](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(02)01369-9).
- Aku AS, Sandiah N, Sadsoetioeboen PD, Amin MR, Herdis. 2007. Manfaat Lesitin Nabati pada Preervasi dan Kriopreservasi Semen: Suatu Kajian Pustaka. *Jurnal Animal Production*. 9(1):4952.
- Alçay S, Toker MB, Gökçe E, Önder NT, Üstüner B, Nur Z. 2019. Long term incubation resilience of post-thaw ram semen diluted with lecithin-based extender supplemented with bovine serum albumin. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*. 25(3):291–297. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2018.20843>.
- Amann RP, Waberski D. 2014. Computer-assisted sperm analysis (CASA): Capabilities and potential developments. *Theriogenology*. 81:5-17.e3. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.09.004>.
- Ariantje OS, Yusuf TL, Sajuthi D, Arifiantini RI. 2013. Pengaruh Krioprotektan Gliserol dan Dimethylformamida dalam Pembekuan Semen Kambing Peranakan Etawah Menggunakan Pengencer Tris Modifikasi. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*. 18(4). <https://doi.org/10.14334/jitv.v18i4.327>.
- Arifiantini RI. 2012. *Teknik Koleksi dan Evaluasi Semen Pada Hewan*. IPB PRESS, Bogor.
- Arifiantini RI, Purwantara B, Putra WW. 1999. Pengujian Keutuhan Membran Plasma Spermatozoa Semen Cair Domba Menggunakan Larutan Hipoosmotik, p 1–10. *Prosiding Seminar Hasil-Hasil Penelitian Bidang Ilmu Hayat*.
- Arvioges, Anwar P, Jiyanto. 2021. Efektivitas Suhu Thawing Terhadap Keadaan Membran Plasma Utuh (MPU) dan Tudung Akrosom Utuh (TAU) Spermatozoa Sapi Bali. *Jurnal Green Swarnadwipa*. 10(2):1–9.
- Aurich C, Seeber P, Müller-Schlösser F. 2007. Comparison of Different Extenders with Defined Protein Composition for Storage of Stallion Spermatozoa at 5°C. *Reproduction in Domestic Animals*. 42(4):445–448. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2006.00828.x>.

- Baust JG, Gao D, Baust JM. 2009. Cryopreservation : An emerging paradigm change. New York.
- Bebas W, Gorda IW, Dada KA. 2021. Pengaruh Musim Hujan dan Kemarau Terhadap Kualitas Semen Sapi Bali di Balai Inseminasi Buatan Baturiti, Tabanan, Bali. *Buletin Veteriner Udayana*. :105. <https://doi.org/10.24843/bulvet.2021.v13.i01.p16>.
- Beccaglia M, Anastasi P, Chigioni S, Luvoni GC. 2009. Tris-lecithin extender supplemented with antioxidant catalase for chilling of canine semen, p 345–349. *Reproduction in Domestic Animals*. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2009.01410.x>.
- Blegur J, Nalley WM, Mata Hine T. 2020. Pengaruh Penambahan Virgin Coconut Oil dalam Pengencer Tris Kuning Telur Terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Bali Selama Preservasi. *Jurnal Nukleus Peternakan*. 7(2):2656–792.
- Bousseau S, Brillard JP, Marquant-Le Guienne B, Guérin B, Camus A. 1998. Comparison of Bacteriological Qualities of Various Egg Yolk Sources and The In Vitro and In Vivo Fertilizing Potential of Bovine Semen Frozen In Egg Yolk or Lecithin Based Diluents. *Journal Theriogenology*. 50(5):699–706.
- Bria MM, Nalley WM, Kihe JN, Hine TM. 2022. Pengaruh Substitusi Sari Buah Semangka Dalam Pengencer Sitrat-Kuning Telur Terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Bali. *Jurnal Nukleus Peternakan*. 9(1):23–32. <https://doi.org/10.35508/nukleus.v9i1.4393>.
- Brown CA, William Boone MR, Shapiro S, Shapiro S. 1988. Improved cryopreserved semen fecundability in an alternating fresh-frozen artificial insemination program.
- Cahyani P, Ondho YS, Samsudewa D. 2020. Pengaruh Tarum (*Indigofera zollingeriana*) dalam Pengencer Semen terhadap Viabilitas dan Tudung Akrosom Utuh Pada Spermatozoa Kambing Peranakan Ettawa. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*. 15(3):259–264. <https://doi.org/10.31186/jspi.id.15.3.259-264>.
- Campbell NA, Reece JB, Mitchell LG. 2002. *Biologi*, 5th edn. Erlangga, Jakarta.
- Chaudhari DV, Dharmi AJ, Hadiya KK, Patel JA. 2015. Relative Efficacy of Egg Yolk and Soya Milk-Based Extenders for Cryopreservation (-196oC) of Buffalo Semen. *Veterinary World Journal*. 8(2):239–244.
- Contri A, Valorz C, Faustini M, Wegher L, Carluccio A. 2010. Effect of semen preparation on casa motility results in cryopreserved bull spermatozoa. *Theriogenology*. 74(3):424–435. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.02.025>.
- Cotter PZ, Goolsby HA, Prien SD. 2005. Preliminary Evaluation of a Unique Freezing Technology for Bovine Spermatozoa Cryopreservation. *Reprod Dom Anim*. 40(1):98–99.

- Devita V, Wiratri B, Susilawati T, Sri W. 2015. Kualitas Semen Sapi Limousin Pada Pengencer Yang Berbeda Selama Pendinginan. *Jurnal Ternak Tropika*. 15(1):13–20.
- Duffy B, Thiyagalingam J, Walton S, Smith DJ, Trefethen A, Kirkman-Brown JC, Gaffney EA, Chen M. 2015. Glyph-Based Video Visualization for Semen Analysis. *IEEE Trans Vis Comput Graph*. 21(8):980–993. <https://doi.org/10.1109/TVCG.2013.265>.
- El-Sisy GA, El-Nattat WS, El-Sheshtawy RI, Abo El-Maaty AM. 2016. Substitution of egg yolk with different concentrations of soybean lecithin in tris-based extender during bulls' semen preservability. *Asian Pacific Journal of Reproduction*. 5(6):514–518. <https://doi.org/10.1016/j.apjr.2016.10.011>.
- Ervandi M, Susilawati T, Wahyuningsih S. 2013. Pengaruh Pengencer yang Berbeda Terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Hasil Sexing dengan Gradien Albumin (Putih Telur). *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*. 18(3). <https://doi.org/10.14334/jitv.v18i3.319>.
- Fadhil M, Rozi F, Ducha N. 2021. Pengaruh Konsentrasi Gliserol dalam Pengencer Tris-Soya terhadap Motilitas Spermatozoa Kambing Boer Sebelum dan Sesudah Pembekuan. *Jurnal Unesa-LenteraBio*. 9(1):12–16.
- Fika DY, Susilawati T, Rahayu S. 2014. Keutuhan Membran Spermatozoa Disekuensing Sentrifugasi Gradien Densitas Percoll Berpengencer Andromed dan CEP-2 yang Ditambahkan Kuning Telur. *Jurnal Veteriner*. 15(1):23–30.
- Froning GW. 1987. Recent advances in egg products research and development. Presented at the University of California Egg Processing Workshop. Riverside and Modesto. *Poult Sci*. 66(1):1168–1173.
- Futino DO, Mendes MCB, Matos WNL, Mondadori RG, Lucci CM. 2010. Glycerol, methyl-formamide and dimethyl-formamide in canine semen cryopreservation. *Reproduction in Domestic Animals*. 45(2):214–220. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01208.x>.
- Gallagher MT, Cupples G, Ooi EH, Kirkman-Brown JC, Smith DJ. 2019. Rapid sperm capture: High-throughput flagellar waveform analysis. *Human Reproduction*. 34(7):1173–1185. <https://doi.org/10.1093/humrep/dez056>.
- Garner DL, Hafez ESE. 2016. Spermatozoa and Seminal Plasma, p 96–109. *Reproduction in Farm Animals 7th Edition*. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland, USA. <https://doi.org/10.1002/9781119265306.ch7>.
- Garner DL, Hafez ESE. 2008. Spermatozoa and Seminal Plasma. In *Reproduction In Farm Animal*.
- Garner DL, Hafez ESE. 2000. Spermatozoa and Seminal Plasma in *Reproduction in Farm Animals, 7th Edition*. Lippincott Williams and Wilkins, Maryland, USA.

- Gazali M, Natal Tambing S. 2002. Kriopreservasi Sel Spermatozoa. *Jurnal Hayati*. 9(1):27–32.
- Gil J, Rodriguez-Irazaqui M, Lundeheim N, Èderquist LS, Rodrõ Àguez-Martõ Ànez H. 2003. Fertility of Ram Semen Frozen in Bioexcell and Used for Cervical Artificial Insemination. *Theriogenology*. 59(5):1168–1170.
- Graham JK, Foote' RH. 1987. Effect of Several Lipids, Fatty Acyl Chain Length, and Degree of Unsaturation on the Motility of Bull Spermatozoa after Cold Shock and Freezing.
- Hafez ESE. 2000. *Reproduction in Farm Animal*. 7 th .
- Hapsari RD, Khalifah Y, Widyas N, Pramono A, Prastowo S. 2018. Age effect on post freezing sperm viability of Bali cattle (*Bos javanicus*). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. Institute of Physics Publishing. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/142/1/012007>.
- Herdis, Darmawan IWA. 2013. Pengaruh Maltosa sebagai Krioprotektan Ekstraseluler dalam Meningkatkan Kualitas Semen Beku Guna Mendukung Keberhasilan Teknologi Inseminasi Buatan. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia*. 14(3):197–202.
- Herdis, Purwantara B, Supriatna I, Putu IG. 1998. Metode Pemberian Gliserol dan Lama Ekuilibrasi pada Proses Pembekuan Semen Kerbau Lumpur. Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Holt W V, Moore HDM, Hillier SG. 1985. Computer-assisted measurement of sperm swimming speed in human semen: correlation of results with in vitro fertilization assays*.
- Immelda KH, Susilowati S, Yudaniayanti IS. 2019. Pengaruh Bahan Pengencer Sari Kacang Kedelai terhadap Viabilitas dan Nekrosis Spermatozoa Domba Sapudi. *Jurnal Ovozoa*. 8(1):36–42.
- Inonie RI, Ode Baa L, Saili T. 2016. Kualitas Spermatozoa Kambing Boerawa dan Kambing Kacang pada Penggunaan Tris-Kuning Telur yang Berbeda. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan Tropis*. 3(1):52–64.
- Jeyendran RS, Zaneveld LJ. 1986. Human Sperm Hypoosmotic Swelling Test. *Fertil Steril*. 46(1):151–152. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(16\)49484-7](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(16)49484-7).
- Kartasudjana R. 2001. *Teknik Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Jakarta.
- Kathiravan P, Kalatharan J, Karthikeya G, Rengarajan K, Kadirvel G. 2011. Objective Sperm Motion Analysis to Assess Dairy Bull Fertility Using Computer-Aided System - A Review. *Reproduction in Domestic Animals*. 46:165–172. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2010.01603.x>.
- Kmenta I, Strohmayr C, Müller-Schlösser F, Schäfer-Somi S. 2011. Effects of a lecithin and catalase containing semen extender and a second dilution with different enhancing buffers on the quality of cold-stored canine

- spermatozoa. *Theriogenology*. 75(6):1095–1103.
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.11.018>.
- Kostaman T, Sopiyan S, Setioko DAR. 2011. Tingkat Penurunan Suhu pada Kriopreservasi Primordial Germ Cell (PGC) dari Tiga Jenis Ayam Lokal Indonesia.
- Kostaman T, Sutama IK. 2006. Studi Motilitas dan Daya Hidup Spermatozoa Kambing Boer Pada Pengencer Tris-Sitrat- Fruktosa. *Jurnal Sain Veteriner*. 24(1):58–64.
- Kumar U, Gawande AP, Sahatpure SK, Patil MS, Lakde CK, Bonde SW, Borkar PL, Poharkar AJ, Ramteke BR. 2015. Assessment of semen quality in pure and crossbred Jersey bulls. *Vet World*. 8(10):1266–1272.
<https://doi.org/10.14202/vetworld.2015.1266-1272>.
- Layek SS, Mohanty TK, Kumaresan A, Parks JE. 2016. Evolution from egg yolk based to soybean based extenders. *Anim Reprod Sci*. 172:1–9.
<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2016.04.013>.
- Leboeuf B, Restall B, Salamon S. 2000. Production and Storage of Goat Semen For Artificial Insemination. *Anim Reprod Sci*. 62(1):113–141.
- Leo SJSR, Nalley WM, Uly K, Belli HLL. 2023. Pengaruh Penambahan Laktosa Di Dalam Pengencer Tris Dan Sitrat Terhadap Kualitas Semen Cair Sapi Angus. *Jurnal Nukleus Peternakan*. 10(1):77–87.
<https://doi.org/10.35508/nukleus.v10i1.7952>.
- Lestari TPS, Ihsan MN, Isnaini N. 2014. Pengaruh Waktu Simpan Semen Segar dengan Pengencer Andromed Pada Suhu Ruang Terhadap Kualitas Semen Kambing Boer. *Jurnal Ternak Tropika*. 15(1):43–50.
- Malik A, Fauzi R, Zakir IM, Sakiman. 2017. Substitusi Madu Asli Pengganti Gliserol dalam Pembekuan pada Kualitas Pasca-thawing Spermatozoa Sapi Bali. *Acta Vet Indones*. 5(2):98–104.
- Manehat FX, Dethan AA, Tahuk PK. 2021. Motility, Viability, Spermatozoa Abnormality, and pH of Bali Cattle Semen in Another-Yellow Water Driller Stored in a Different Time. *Journal of Tropical Animal Science and Technology*. 3(2):76–90. <https://doi.org/10.32938/jtast.v3i2.1032>.
- Marawali A, Abdullah MS, Jalaludin. 2019a. Efektivitas Suplementasi Filtrat Jambu Biji dalam Pengencer Air Kelapa-Kuning Telur terhadap Kualitas Semen Cair Sapi Bali. *Jurnal Veteriner*. 20(1):20.
<https://doi.org/10.19087/jveteriner.2019.20.1.20>.
- Mardiana. 2017. Perbandingan Pengencer Andromed, Susu Skim dan Pengencer Alami Terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Bali. *Jurnal Bionature*. 18(1):21–32.
- Marquez B, Suarez SS. 2004. Different Signaling Pathways in Bovine Sperm Regulate Capacitation and Hyperactivation. *Biol Reprod*. 70(6):1626–1633.
<https://doi.org/10.1095/biolreprod.103.026476>.

- Massányi P, Chrenek P, Lukáč N, Makarevich A, Ostro A, Živčák J, Bulla J. 2008. Comparison of Different Evaluation Chambers for Analysis of Rabbit Spermatozoa Motility Parameters Using CASA System. *Slovak Journal of Animal Science*. 41(2):60–66.
- Mehdipour M, Daghigh Kia H, Nazari M, Najafi A. 2017. Effect of Lecithin Nanoliposome or Soybean Lecithin Supplemented by Pomegranate Extract on Post-Thaw Flow Cytometric, Microscopic and Oxidative Parameters in Ram Semen. *Cryobiology*. 78:34–40. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2017.07.005>.
- Minitub. 2001. Certificate Andromed. Germany. Germany, Germany.
- Mortimer ST, Swan MA, Mortimer D. 1998. Effect of seminal plasma on capacitation and hyperactivation in human spermatozoa.
- Moussa M, Martinet V, Trimeche A, Tainturier D, Anton M. 2002. Low Density Lipoproteins Extracted From Hen Egg Yolk By An Easy Method: Cryoprotective Effect On Frozen Thawed Bull Semen. *Theriogenology*. 57(1):1695–1706.
- Muiño R, Rivera MM, Rigau T, Rodriguez-Gil JE, Peña AI. 2008. Effect of different thawing rates on post-thaw sperm viability, kinematic parameters and motile sperm subpopulations structure of bull semen. *Anim Reprod Sci*. 109(1–4):50–64. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2007.11.028>.
- Mujahidurrohman M, Yuliani E, HY L. 2023. Ability of Melon (*Cucumis melo*. L) Fruit Juices Based Tris Diluent on The Quality of Frozen Spermatozoa of Bali Cattle After Thawing. *Jurnal Biologi Tropis*. 23(3):450–463. <https://doi.org/10.29303/jbt.v23i3.5380>.
- Mukminat A, Surhayati S, Siswanto. 2014. Pengaruh Penambahan Berbagai Sumber Karbohidrat pada Pengencer Skim Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Bali. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*. :87–92.
- Nguyen V V., Ponchunchoovong S, Kupittayanant S, Kupittayanant P. 2019. Effects of Egg Yolk and Soybean Lecithin on Sperm Quality Determined by Computer-Assisted Sperm Analysis and Confocal Laser Scanning Microscope in Chilled Canine Sperm. *Vet Med Sci*. 5(3):345–360. <https://doi.org/10.1002/vms3.158>.
- Nofa Y, Karja NWK, Arifiantini RI. 2017. Status Akrosom dan Kualitas Post-Thawed Spermatozoa pada Beberapa Rumpun Sapi dari Dua Balai Inseminasi Buatan. *Acta Vet Indones*. 5(2):81–88.
- Novita R, Karyono T, Rasminah R. 2019. Kualitas Semen Sapi Brahman pada Persentase Tris Kuning Telur yang Berbeda. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*. 14(4):351–358. <https://doi.org/10.31186/jspi.id.14.4.351-358>.
- Nyuwita A, Susilawati T, Isnaini N. 2015. Kualitas Semen Segar Dan Produksi Semen Beku Sapi Simmental Pada Umur Yang Berbeda.

- Ogbuewu IP, Etuk IF, Opara MC, Uchegbu IC, Okoli, Iloeje MU. 2010. Relevance of Oxygen Free Radicals and Antioxidants in Sperm Production and Function. *Res J Vet Sci.* 3(3):138–164.
- Oke M, Jacob JK, Paliyath G. 2010. Effect of Soy Lecithin in Enhancing Fruit Juice/Sauce Quality. *Food Research International.* 43(1):232–240. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.021>.
- Pamungkas FA, Krisnan R. 2017. Pemanfaatan Sari Kedelai Sebagai Bahan Pengencer Pengganti Kuning Telur Untuk Kriopreservasi Spermatozoa Hewan. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian.* 36(1):21. <https://doi.org/10.21082/jp3.v36n1.2017.p21-27>.
- Parks JE, Graham JK. 1992. Effect Of Cryopreservation Procedures On Sperm Membranes. *Theriogenology Journal.* :209–222.
- Paulenz H, Söderquist L, Ådnøy T, Soltun K, Sæther PA, Fjellsøy KR, Berg KA. 2005. Effect of Cervical and Vaginal Insemination with Liquid Semen Stored at Room Temperature on Fertility of Goats. *Anim Reprod Sci.* 86(1–2):109–117. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.06.007>.
- de Paz P, Estes MC, Alvarez M, Mata M, Chamorro CA, Anel L. 2010. Development of extender based on soybean lecithin for its application in liquid ram semen. *Theriogenology.* 74(4):663–671. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.03.022>.
- Pratiwi RI, Suharyati S, Hartono M. 2004. Analisis Kualitas Semen Beku Sapi Simmental Menggunakan Pengencer Andromed Dengan Variasi Waktu Pre Freezing. :8–15.
- Priyanto L, Arifiantini RI, Yusuf TL. 2015. Deteksi Kerusakan DNA Spermatozoa Semen Segar dan Semen Beku Sapi Menggunakan Pewarnaan Toluidine Blue. *Jurnal Veteriner Maret.* 16(1):48–55.
- Quinn PJ, Chow PYW, White IG. 1980. Evidence that Phospholipid Protects Ram Spermatozoa From Cold Shock at a Plasma Membrane Site. *Journal Reproduction & Fertility.* :403–407.
- Qureshi MS, Rehman FU, Rehman FU, Khan RU. 2014. Effect of Soybean Based Extenders on Sperm Parameters of Holstein-Friesian Bull During Liquid Storage at 4°C.
- Raheja N, Choudhary S, Grewal S, Sharma N, Kumar N. 2018. A Review On Semen Extenders And Additives Used In Cattle And Buffalo Bull Semen Preservation. *J Entomol Zool Stud.* 6(3):239–245.
- Rasul Z, Ahmad N, Anzar M. 2001. Changes in Motion Characteristics, Plasma Membrane Integrity, and Acrosome Morphology During Cryopreservation of Buffalo Spermatozoa. *J Androl.* 22(2):278–283. <https://doi.org/10.1002/j.1939-4640.2001.tb02181.x>.
- Ratnawati D, Isnaini N, Susilawati T. 2019. Factors Affecting Spermatozoa Motility Analysis using CASA. *Indonesian Bulletin of Animal and Veterinary Sciences.* 29(3):145. <https://doi.org/10.14334/wartazoa.v29i3.2012>.

- Rehman FU, Qureshi MS, Khan RU. 2014. Effect of Soybean Based Extenders on Sperm Parameters of Holstein-Friesian Bull During Liquid Storage at 4°C. *Pakistan J Zool.* 46(1):185–189.
- Rezki ZM, Samsudewa D, Ondho YS. 2016. Pengaruh Pengencer Kombinasi Sari Kedelai dan Tris terhadap Kualitas Mikroskopis Spermatozoa Pejantan Sapi PO Kebumen. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia.* 11(2):67–74.
- Ripp S, Daumer KA, McKnight T, Levine LH, Garland JL, Simpson ML, Saylor GS. 2003. Bioluminescent bioreporter integrated-circuit sensing of microbial volatile organic compounds. *J Ind Microbiol Biotechnol.* 30(11):636–642. <https://doi.org/10.1007/s10295-003-0093-6>.
- Rukmana SK, Y. Yuniarsih. 1996. *Kedelai, Budidaya Pasca Panen.* Kanisius, Yogyakarta.
- Saili T. 1999. *Penggunaan Albumin Sebagai Medium Separasi Dalam Upaya Mengubah Rasio Alamiah Spermatozoa Pembawa Kromosom X dan Y pada Sapi.* Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Salmani H, Towhidi A, Zhandi M, Bahreini M, Sharafi M. 2014. In Vitro Assesment of Soybean Lecithin and Egg Yolk Based Diluentrs for Cryopreservation of Goat Semen. *Cryobiology.* 68(2):276–280. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2014.02.008>.
- Saputra D, Ihsan M, Isnaini N. 2017. Korelasi Antara Lingkar Skrotum Dengan Volume Semen, Konsentrasi Dan Motilitas Spermatozoa Pejantan Sapi Bali. *Journal of Tropical Animal Production.* 10(2):59–68. <https://doi.org/10.21776/ub.jtapro.2017.018.02.9>.
- Sarastina, Susilawati T, Ciptadi G. 2007. Analisa Beberapa Parameter Motilitas Spermatozoa Pada Berbagai Bangsa Sapi Menggunakan Computer Assisted Semen Analysis (CASA). *Jurnal Ternak Tropika.* :1–12.
- Şavkay OL, Yalçın ME, Tavşanoğlu V. 2020. Sperm motility analysis system implemented on a hybrid architecture to produce an intelligent analyzer. *Inform Med Unlocked.* 19. <https://doi.org/10.1016/j.imu.2020.100324>.
- Seshoka MM, Mphaphathi ML, Nedambale TL. 2016. Comparison Of Four Different Permitting And Combination Of Two Best Cryoprotectants On Freezing Nguni Sperm Evaluated With The Aid Of Computer Aided Sperm Analysis. *Cryobiology.* 72(3):232–238. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2016.04.001>.
- Shojaei H, Kroetsch T, Wilde R, Blondin P, Kastelic JP, Thundathil JC. 2012. Moribund sperm in frozen-thawed semen, and sperm motion end points post-thaw and post-swim-up, are related to fertility in Holstein AI bulls. *Theriogenology.* 77(5):940–951. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.09.026>.
- Siahaan EA, Laksmi DNDI, Bebas W. 2012. Efektivitas Penambahan berbagai Konsentrasi B-Karoten terhadap Motilitas dan Daya Hidup Spermatozoa Sapi Bali Post Thawing. *Indonesia Medicus Veterinus.* 1(2):239–251.

- Singh G, Kumar A. 2019. Synteny Analysis of Glycine Max and Phaseolus Vulgaris Revealing Conserved Regions of NBS-LRR Coding Gener. *Biosci Biotechnol Res Commun.* 12(1):135–142. <https://doi.org/10.21786/bbrc/12.1/16>.
- Singh G, Ratnaparkhe M, Kumar A. 2019. Comparative Analysis of Transposable Elements from Glycine max, Cajanus cajan and Phaseolus vulgaris. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences.* 7(2):167–177. [https://doi.org/10.18006/2019.7\(2\).167.177](https://doi.org/10.18006/2019.7(2).167.177).
- Sumadiasa IL, Susilawati T, Ciptadi G, Isnaini N. 2015. The Potency of Guava Filtrate For Preservation of Bali Bull Spermatozoa. *Journal of Agriculture and Veterinary Science.* 8(5):51–57. <https://doi.org/10.9790/2380-08515157>.
- Suprapti L. 2003. Pembuatan Tempe. Kanisius, Yogyakarta.
- Supriatna I, Pasaribu FH. 1992. In Fertilisasi, Transfer Embrio, dan Pembekuan Embrio. Bogor.
- Surachman M, Setiadi MA, Rizal M. 2006. Kriopreservasi Spermatozoa Epididimis Domba Menggunakan Pengencer Berbasis Lesitin. *Jurnal Indonesia Tropical Animal Agriculture.* 31(2):83–89.
- Susilawati T. 2013. Pedoman Inseminasi Buatan Pada Tenrek. UB Press, Malang.
- Susilawati T. 2014. Sexing Spermatozoa (Hasil Penelitian Laboratorium dan Aplikasi pada Sapi dan Kambing). UB PRESS, Malang.
- Susilawati T. 2011. Spermatology. Universitas Brawijaya Press, Malang.
- Susilawati T, Wahyuningsih S. 2013. Daya Hidup Spermatozoa Sapi Limousin yang Dipreservasi dengan Metode Water Jacket dan Free Water Jacket. *Jurnal Veteriner.* 14(3):379–386.
- Susilawati T, Yekti APA. 2018. Teknologi Inseminasi Buatan Menggunakan Semen Cair. Univeristas Brawijaya Press, Malang.
- Susilowati S, Sardjito T, Mustofa I, Widodo OS, Kurnijasanti R. 2021. Effect of green tea extract in extender of Simmental bull semen on pregnancy rate of recipients. *Anim Biosci.* 34(2):198–204. <https://doi.org/10.5713/ajas.20.0025>.
- Tethool AN, Ciptadi G, Wahjuningsih S, Susilawati T. 2022. Karakteristik dan Jenis Pengencer Semen Sapi Bali: Suatu Review. *Jurnal Ilmu Peternakan dan Veteriner Tropis (Journal of Tropical Animal and Veterinary Science).* 12(1). <https://doi.org/10.46549/jipvet.v12i1.214>.
- Thun R, Hurtado M, Janett F. 2002. Comparison of Biociphos-Plus and TRIS-egg yolk extender for cryopreservation of bull semen. *Theriogenology.* :1087–1094.
- Toelihere M. 1993. Inseminasi Buatan pada Ternak. Angkasa Press, Bandung.

- Toelihere MR. 1985. *Fisiologi Reproduksi pada Ternak*. Penerbit Angkasa, Bandung.
- Umami PLM, Bintara S, Ismaya. 2015. Pengaruh aras kuning telur itik alabio (*anas platyrhynchos*) dalam pengencer tris fruktosa terhadap motilitass, viabilitas, dan abnormalitas sperma kambing bligon sebelum dan sesudah kriopreservasi. *Buletin Peternakan*. 39(3):142–148.
- Valliyodan B, Dan Qiu, Patil G, Zeng P, Huang J, Dai L, Chen C, Li Y, Joshi T, Song L, Vuong TD, Musket TA, Xu D, Shannon JG, Shifeng C, Liu X, Nguyen HT. 2016. Landscape of genomic diversity and trait discovery in soybean. *Sci Rep*. 6. <https://doi.org/10.1038/srep23598>.
- Valojerdi MR, Yazdi PE, Karimian L, Hassani F, Movaghar B. 2009. Vitrification versus slow freezing gives excellent survival, post warming embryo morphology and pregnancy outcomes for human cleaved embryos. *J Assist Reprod Genet*. 26(6):347–354. <https://doi.org/10.1007/s10815-009-9318-6>.
- Varasofiari LN, Setiatin ET, Sutopo D. 2013. Evaluasi Kualitas Semen Segar Sapi Jawa Brebes Berdasarkan Lama Waktu Penyimpanan. *Animal Agriculture Journal*. 2(1):201–208.
- Vásquez L, Vera O, Arango J. 2003. Testicular Growth and Semen Quality in Peripuberal Brahman Bulls. *Livestock Research for Rural Development*. 15(76).
- Veerasingam VS, Kusumawati A. 2018. Efek Penambahan Lesitin-Kedelai Terhadap Motilitas Spermatozoa Pada Kriopreservasi Semen Sapi Peranakan Ongole. Yogyakarta.
- Wagelie EB, Patricia VB, Rojas RT. 1982. Prosesing Technique and Storing at Murrah Buffalo Semen in Plastic Straw. *National Research Count of The Pill*. 37(1):153–164.
- Van Wagtendonk-De Leeuw AM, Haring RM, Kaal-Lansbergen LMTE, Den Daas JHG. 2000. Fertility Results Using Bovine Semen Cryopreserved With Extenders Bassed On Egg Yolk and Soy Bean Extract. *Theriogenology Journal*. :57–67.
- Watson PF. 2000. The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Anim Reprod Sci*. 60:481–492.
- Westfalewicz B, Dietrich MA, Ciereszko A. 2015. Impact of Cryopreservation on Bulll (*Bos Taurus*) semen proteome. *Animal Science Journal*. 93(11):5240–5253.
- White IG. 1993. Lipids and Calcium Uptake of Sperm in Relation to Cold Shock and Preservation: a Review. *Reprod Fertil Dev*. 5(6):639–58. <https://doi.org/10.1071/rd9930639>.
- Wijayanti A, Suprayogi TW, Prastiya RA, Hernawati T, Sardjito T, Saputro AL, Amaliya A, Sulistyowati D. 2023. Effect of Addition of Green Tea Extract (*Camellia sinensis*) in Egg Yolk Tris Diluter on Spermatozoa Quality in Bali

- Cattle (*Bos sondaicus*) After Freezing. *Jurnal Medik Veteriner*. 6(1):66–74. <https://doi.org/10.20473/jmv.vol6.iss1.2023.66-74>.
- Wu Y, Zhang Q, Zhang Y, Liu W, Zhang S. 2019. The Effect of Particle Size of Soybean Lecithin on Sperm Motility in Frozen-Thawed Bull Semen. *Theriogenology*. 11(6):1–12.
- Xin Yi T, Kusumawati A. 2018. Efek Penambahan Lesitin Kedelai Terhadap Viabilitas Spermatozoa pada Kriopreservasi Semen Sapi Peranakan Ongole. Yogyakarta.
- Yang S, Chen J, Zhao D, Han D, Chen X. 2012. Comparative study on preparative methods of DC-Chol/DOPE liposomes and formulation optimization by determining encapsulation efficiency. *Int J Pharm*. 434(1–2):155–160. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.05.041>.
- Yendraliza Y, Musyrifin M, Elviridi E, Zumarni Z, Rodiallah M. 2019. Viabilitas Spermatozoa Sapi Bali Menggunakan Pengencer Andromed dengan Penambahan Konsentrasi Sari Wortel yang Berbeda. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan Tropis*. 6(2):239. <https://doi.org/10.33772/jitro.v6i2.5936>.
- Yodmingkwan P, Guntaprom S, Jaksamrit J, Lertchunhakiat K. 2016. Effects of Extenders on Fresh and Freezing Semen of Boer Goat. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*. 11:125–130. <https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2016.12.021>.
- Zhao JQ, Xiao GL, Zhu WL, Fang D, Li N, Han CM, Gao QH. 2021. Ram semen preserved at 0°C with soybean lecithin Tris-based extender substituted for egg yolk. *Anim Biosci*. 34(2):192–197. <https://doi.org/10.5713/ajas.20.0118>.

LAMPIRAN

A. Dokumentasi Penelitian



Pengencer Tris Lesitin Kedelai



Pengenceran Semen



Pemeriksaan Kualitas Semen



Equilibrasi Suhu 5°C



Penyimpanan Semen Kedalam Kontainer Nitrogen

B. Hasil Olah Data SPSS

SEBELUM PEMBEKUAN

Motilitas Individu

Descriptives

Dependent Variable		motilitas							
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	
					Lower Bound	Upper Bound			
k1	4	76,5500	2,96254	1,48127	71,8359	81,2641	73,70	80,50	
k2	4	70,2250	4,62772	2,31386	62,8613	77,5887	63,50	73,80	
p1	4	72,8250	5,91009	2,95505	63,4207	82,2293	64,50	77,80	
p2	4	80,2500	4,96555	2,48277	72,3487	88,1513	73,60	84,90	
p3	4	72,1500	5,98247	2,99124	62,6305	81,6695	64,80	78,00	
Total	20	74,4000	5,76733	1,28961	71,7008	77,0992	63,50	84,90	

ANOVA

motilitas

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	255,275	4	63,819	2,541	,083
Within Groups	376,705	15	25,114		
Total	631,980	19			

motilitas

perlakuan	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
Duncan ^a k2	4	70,2250	
p3	4	72,1500	72,1500
p1	4	72,8250	72,8250
k1	4	76,5500	76,5500
p2	4		80,2500
Sig.		,120	,051

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Ulangan

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
					Lower Bound	Upper Bound	
LSD	K1	K2	6,32500	3,54356	,095	-1,2279	13,8779
		P1	3,72500	3,54356	,310	-3,8279	11,2779
		P2	-3,70000	3,54356	,313	-11,2529	3,8529
		P3	4,40000	3,54356	,233	-3,1529	11,9529
	K2	K1	-6,32500	3,54356	,095	-13,8779	1,2279
		P1	-2,60000	3,54356	,474	-10,1529	4,9529
		P2	-10,02500*	3,54356	,013	-17,5779	-2,4721
		P3	-1,92500	3,54356	,595	-9,4779	5,6279
	P1	K1	-3,72500	3,54356	,310	-11,2779	3,8279
		K2	2,60000	3,54356	,474	-4,9529	10,1529
		P2	-7,42500	3,54356	,054	-14,9779	,1279
		P3	,67500	3,54356	,851	-6,8779	8,2279
P2	K1	3,70000	3,54356	,313	-3,8529	11,2529	
	K2	10,02500*	3,54356	,013	2,4721	17,5779	
	P1	7,42500	3,54356	,054	-,1279	14,9779	
	P3	8,10000*	3,54356	,037	,5471	15,6529	
P3	K1	-4,40000	3,54356	,233	-11,9529	3,1529	
	K2	1,92500	3,54356	,595	-5,6279	9,4779	
	P1	-,67500	3,54356	,851	-8,2279	6,8779	
	P2	-8,10000*	3,54356	,037	-15,6529	-,5471	

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Viabilitas

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
k1	4	76,2500	5,12348	2,56174	68,0974	84,4026	71,00	83,00
k2	4	70,5000	3,10913	1,55456	65,5527	75,4473	68,00	75,00
p1	4	72,7500	4,99166	2,49583	64,8072	80,6928	69,00	80,00
p2	4	78,7500	4,99166	2,49583	70,8072	86,6928	75,00	86,00
p3	4	72,5000	7,85281	3,92641	60,0044	84,9956	63,00	82,00
Total	20	74,1500	5,69649	1,27377	71,4840	76,8160	63,00	86,00

ANOVA

viabilitas					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	174,300	4	43,575	1,478	,258
Within Groups	442,250	15	29,483		
Total	616,550	19			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: viabilitas

	(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	k1	k2	5,75000	3,83949	,155	-2,4337	13,9337
		p1	3,50000	3,83949	,376	-4,6837	11,6837
		p2	-2,50000	3,83949	,525	-10,6837	5,6837
		p3	3,75000	3,83949	,344	-4,4337	11,9337
	k2	k1	-5,75000	3,83949	,155	-13,9337	2,4337
		p1	-2,25000	3,83949	,567	-10,4337	5,9337
		p2	-8,25000*	3,83949	,048	-16,4337	-,0663
		p3	-2,00000	3,83949	,610	-10,1837	6,1837
	p1	k1	-3,50000	3,83949	,376	-11,6837	4,6837
		k2	2,25000	3,83949	,567	-5,9337	10,4337
		p2	-6,00000	3,83949	,139	-14,1837	2,1837
		p3	,25000	3,83949	,949	-7,9337	8,4337
	p2	k1	2,50000	3,83949	,525	-5,6837	10,6837
		k2	8,25000*	3,83949	,048	,0663	16,4337
		p1	6,00000	3,83949	,139	-2,1837	14,1837
		p3	6,25000	3,83949	,124	-1,9337	14,4337
	p3	k1	-3,75000	3,83949	,344	-11,9337	4,4337
		k2	2,00000	3,83949	,610	-6,1837	10,1837
		p1	-,25000	3,83949	,949	-8,4337	7,9337
		p2	-6,25000	3,83949	,124	-14,4337	1,9337

*. The mean difference is significant at the .05 level.

viabilitas

perlakuan	N	Subset for alpha = .05
		1
Duncan ^a k2	4	70,5000
p3	4	72,5000
p1	4	72,7500
k1	4	76,2500
p2	4	78,7500
Sig.		,070

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

MPU (MEMBRAN PLASMA UTUH)

Descriptives

MPU

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
k1	4	82,5000	1,29099	,64550	80,4457	84,5543	81,00	84,00
k2	4	79,7500	1,25831	,62915	77,7478	81,7522	78,00	81,00
p1	4	82,5000	,57735	,28868	81,5813	83,4187	82,00	83,00
p2	4	84,2500	,95743	,47871	82,7265	85,7735	83,00	85,00
p3	4	79,5000	1,29099	,64550	77,4457	81,5543	78,00	81,00
Total	20	81,7000	2,10513	,47072	80,7148	82,6852	78,00	85,00

ANOVA

MPU

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	65,700	4	16,425	13,318	,000
Within Groups	18,500	15	1,233		
Total	84,200	19			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: MPU

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
					Lower Bound	Upper Bound	
LSD	k1	k2	2,75000*	,78528	,003	1,0762	4,4238
		p1	,00000	,78528	1,000	-1,6738	1,6738
		p2	-1,75000*	,78528	,042	-3,4238	-,0762
		p3	3,00000*	,78528	,002	1,3262	4,6738
	k2	k1	-2,75000*	,78528	,003	-4,4238	-1,0762
		p1	-2,75000*	,78528	,003	-4,4238	-1,0762
		p2	-4,50000*	,78528	,000	-6,1738	-2,8262
		p3	,25000	,78528	,755	-1,4238	1,9238
	p1	k1	,00000	,78528	1,000	-1,6738	1,6738
		k2	2,75000*	,78528	,003	1,0762	4,4238
		p2	-1,75000*	,78528	,042	-3,4238	-,0762
		p3	3,00000*	,78528	,002	1,3262	4,6738
p2	k1	1,75000*	,78528	,042	,0762	3,4238	
	k2	4,50000*	,78528	,000	2,8262	6,1738	
	p1	1,75000*	,78528	,042	,0762	3,4238	
	p3	4,75000*	,78528	,000	3,0762	6,4238	
p3	k1	-3,00000*	,78528	,002	-4,6738	-1,3262	
	k2	-,25000	,78528	,755	-1,9238	1,4238	
	p1	-3,00000*	,78528	,002	-4,6738	-1,3262	
	p2	-4,75000*	,78528	,000	-6,4238	-3,0762	

*. The mean difference is significant at the .05 level.

MPU

perlakuan	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
Duncan ^a p3	4	79,5000	
k2	4	79,7500	
k1	4		82,5000
p1	4		82,5000
p2	4		84,2500
Sig.		,755	,051

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

TAU (TUDUNG AKROSOM UTUH)**Descriptives**

TAU

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
k1	4	84,7500	1,70783	,85391	82,0325	87,4675	83,00	87,00
k2	4	81,0000	1,82574	,91287	78,0948	83,9052	79,00	83,00
p1	4	83,7500	1,25831	,62915	81,7478	85,7522	82,00	85,00
p2	4	84,5000	1,29099	,64550	82,4457	86,5543	83,00	86,00
p3	4	81,2500	2,21736	1,10868	77,7217	84,7783	79,00	84,00
Total	20	83,0500	2,23548	,49987	82,0038	84,0962	79,00	87,00

ANOVA

TAU

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	51,700	4	12,925	4,483	,014
Within Groups	43,250	15	2,883		
Total	94,950	19			

TAU

perlakuan	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
Duncan ^a k2	4	81,0000		
p3	4	81,2500	81,2500	
p1	4		83,7500	83,7500
p2	4			84,5000
k1	4			84,7500
Sig.		,838	,055	,442

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: TAU

	(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	k1	k2	3,75000*	1,20069	,007	1,1908	6,3092
		p1	1,00000	1,20069	,418	-1,5592	3,5592
		p2	,25000	1,20069	,838	-2,3092	2,8092
		p3	3,50000*	1,20069	,011	,9408	6,0592
	k2	k1	-3,75000*	1,20069	,007	-6,3092	-1,1908
		p1	-2,75000*	1,20069	,037	-5,3092	-,1908
		p2	-3,50000*	1,20069	,011	-6,0592	-,9408
		p3	-,25000	1,20069	,838	-2,8092	2,3092
	p1	k1	-1,00000	1,20069	,418	-3,5592	1,5592
		k2	2,75000*	1,20069	,037	,1908	5,3092
		p2	-,75000	1,20069	,542	-3,3092	1,8092
		p3	2,50000	1,20069	,055	-,0592	5,0592
p2	k1	-,25000	1,20069	,838	-2,8092	2,3092	
	k2	3,50000*	1,20069	,011	,9408	6,0592	
	p1	,75000	1,20069	,542	-1,8092	3,3092	
	p3	3,25000*	1,20069	,016	,6908	5,8092	
p3	k1	-3,50000*	1,20069	,011	-6,0592	-,9408	
	k2	,25000	1,20069	,838	-2,3092	2,8092	
	p1	-2,50000	1,20069	,055	-5,0592	,0592	
	p2	-3,25000*	1,20069	,016	-5,8092	-,6908	

*. The mean difference is significant at the .05 level.

POLA PERGERAKAN SPERMA

VAP

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K1	4	49,7000	4,88039	2,44019	41,9342	57,4658	46,15	56,74
K2	4	52,7125	11,11830	5,55915	35,0208	70,4042	44,29	69,09
P1	4	50,0500	11,04623	5,52312	32,4730	67,6270	42,27	66,43
P2	4	52,0375	6,49043	3,24521	41,7098	62,3652	46,59	61,02
P3	4	48,4550	4,50498	2,25249	41,2866	55,6234	43,50	53,52
Total	20	50,5910	7,41475	1,65799	47,1208	54,0612	42,27	69,09

ANOVA

VAP

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	48,969	4	12,242	,184	,943
Within Groups	995,624	15	66,375		
Total	1044,593	19			

VAP

Perlakuan		N	Subset for alpha = .05
			1
Duncan ^a	P3	4	48,4550
	K1	4	49,7000
	P1	4	50,0500
	P2	4	52,0375
	K2	4	52,7125
	Sig.		

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: VAP

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
					Lower Bound	Upper Bound	
LSD	K1	K2	-3,01250	5,76086	,609	-15,2915	9,2665
		P1	-,35000	5,76086	,952	-12,6290	11,9290
		P2	-2,33750	5,76086	,691	-14,6165	9,9415
		P3	1,24500	5,76086	,832	-11,0340	13,5240
	K2	K1	3,01250	5,76086	,609	-9,2665	15,2915
		P1	2,66250	5,76086	,651	-9,6165	14,9415
		P2	,67500	5,76086	,908	-11,6040	12,9540
		P3	4,25750	5,76086	,471	-8,0215	16,5365
	P1	K1	-,35000	5,76086	,952	-11,9290	12,6290
		K2	-2,66250	5,76086	,651	-14,9415	9,6165
		P2	-1,98750	5,76086	,735	-14,2665	10,2915
		P3	1,59500	5,76086	,786	-10,6840	13,8740
P2	K1	2,33750	5,76086	,691	-9,9415	14,6165	
	K2	-,67500	5,76086	,908	-12,9540	11,6040	
	P1	1,98750	5,76086	,735	-10,2915	14,2665	
	P3	3,58250	5,76086	,543	-8,6965	15,8615	
P3	K1	-1,24500	5,76086	,832	-13,5240	11,0340	
	K2	-4,25750	5,76086	,471	-16,5365	8,0215	
	P1	-1,59500	5,76086	,786	-13,8740	10,6840	
	P2	-3,58250	5,76086	,543	-15,8615	8,6965	

VCL

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K1	4	91,9500	17,05799	8,52900	64,8069	119,0931	74,11	113,90
K2	4	94,8175	7,62333	3,81167	82,6871	106,9479	85,70	104,30
P1	4	95,3650	21,86511	10,93255	60,5727	130,1573	73,32	121,70
P2	4	101,5775	12,51240	6,25620	81,6675	121,4875	91,42	117,30
P3	4	86,0250	14,66781	7,33391	62,6852	109,3648	69,36	99,81
Total	20	93,9470	14,70337	3,28777	87,0656	100,8284	69,36	121,70

ANOVA

VCL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	510,956	4	127,739	,533	,714
Within Groups	3596,635	15	239,776		
Total	4107,591	19			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: VCL

	(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	K1	K2	-2,86750	10,94933	,797	-26,2054	20,4704
		P1	-3,41500	10,94933	,759	-26,7529	19,9229
		P2	-9,62750	10,94933	,393	-32,9654	13,7104
		P3	5,92500	10,94933	,596	-17,4129	29,2629
	K2	K1	2,86750	10,94933	,797	-20,4704	26,2054
		P1	-,54750	10,94933	,961	-23,8854	22,7904
		P2	-6,76000	10,94933	,546	-30,0979	16,5779
		P3	8,79250	10,94933	,435	-14,5454	32,1304
	P1	K1	3,41500	10,94933	,759	-19,9229	26,7529
		K2	,54750	10,94933	,961	-22,7904	23,8854
		P2	-6,21250	10,94933	,579	-29,5504	17,1254
		P3	9,34000	10,94933	,407	-13,9979	32,6779
P2	K1	9,62750	10,94933	,393	-13,7104	32,9654	
	K2	6,76000	10,94933	,546	-16,5779	30,0979	
	P1	6,21250	10,94933	,579	-17,1254	29,5504	
	P3	15,55250	10,94933	,176	-7,7854	38,8904	
P3	K1	-5,92500	10,94933	,596	-29,2629	17,4129	
	K2	-8,79250	10,94933	,435	-32,1304	14,5454	
	P1	-9,34000	10,94933	,407	-32,6779	13,9979	
	P2	-15,55250	10,94933	,176	-38,8904	7,7854	

VCL

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05
		1
Duncan ^a P3	4	86,0250
K1	4	91,9500
K2	4	94,8175
P1	4	95,3650
P2	4	101,5775
Sig.		,217

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

VSL

Descriptives

VSL

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K1	4	49,7000	4,88039	2,44019	41,9342	57,4658	46,15	56,74
K2	4	52,7125	11,11830	5,55915	35,0208	70,4042	44,29	69,09
P1	4	50,0500	11,04623	5,52312	32,4730	67,6270	42,27	66,43
P2	4	52,0375	6,49043	3,24521	41,7098	62,3652	46,59	61,02
P3	4	45,9550	3,39532	1,69766	40,5523	51,3577	43,50	50,71
Total	20	50,0910	7,54290	1,68664	46,5608	53,6212	42,27	69,09

ANOVA

VSL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	111,689	4	27,922	,432	,783
Within Groups	969,324	15	64,622		
Total	1081,013	19			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: VSL

	(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	K1	K2	-3,01250	5,68426	,604	-15,1282	9,1032
		P1	-,35000	5,68426	,952	-12,4657	11,7657
		P2	-2,33750	5,68426	,687	-14,4532	9,7782
		P3	3,74500	5,68426	,520	-8,3707	15,8607
	K2	K1	3,01250	5,68426	,604	-9,1032	15,1282
		P1	2,66250	5,68426	,646	-9,4532	14,7782
		P2	,67500	5,68426	,907	-11,4407	12,7907
		P3	6,75750	5,68426	,253	-5,3582	18,8732
	P1	K1	,35000	5,68426	,952	-11,7657	12,4657
		K2	-2,66250	5,68426	,646	-14,7782	9,4532
		P2	-1,98750	5,68426	,731	-14,1032	10,1282
		P3	4,09500	5,68426	,482	-8,0207	16,2107
P2	K1	2,33750	5,68426	,687	-9,7782	14,4532	
	K2	-,67500	5,68426	,907	-12,7907	11,4407	
	P1	1,98750	5,68426	,731	-10,1282	14,1032	
	P3	6,08250	5,68426	,302	-6,0332	18,1982	
P3	K1	-3,74500	5,68426	,520	-15,8607	8,3707	
	K2	-6,75750	5,68426	,253	-18,8732	5,3582	
	P1	-4,09500	5,68426	,482	-16,2107	8,0207	
	P2	-6,08250	5,68426	,302	-18,1982	6,0332	

VSL

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
Duncan ^a P3	4	45,9550	
K1	4	49,7000	
P1	4	50,0500	
P2	4	52,0375	
K2	4	52,7125	
Sig.			,298

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

WOB

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K1	4	,5225	,02363	,01181	,4849	,5601	,49	,54
K2	4	,5550	,07047	,03524	,4429	,6671	,51	,66
P1	4	,5300	,06164	,03082	,4319	,6281	,44	,58
P2	4	,5125	,01708	,00854	,4853	,5397	,49	,53
P3	4	,3850	,05196	,02598	,3023	,4677	,33	,45
Total	20	,5010	,07546	,01687	,4657	,5363	,33	,66

ANOVA

WOB

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,071	4	,018	7,229	,002
Within Groups	,037	15	,002		
Total	,108	19			

WOB

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
Duncan ^a P3	4	,3850	
P2	4		,5125
K1	4		,5225
P1	4		,5300
K2	4		,5550
Sig.		1,000	,282

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: WOB

	(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	K1	K2	-,03250	,03510	,369	-,1073	,0423
		P1	-,00750	,03510	,834	-,0823	,0673
		P2	,01000	,03510	,780	-,0648	,0848
		P3	,13750*	,03510	,001	,0627	,2123
	K2	K1	,03250	,03510	,369	-,0423	,1073
		P1	,02500	,03510	,487	-,0498	,0998
		P2	,04250	,03510	,245	-,0323	,1173
		P3	,17000*	,03510	,000	,0952	,2448
	P1	K1	,00750	,03510	,834	-,0673	,0823
		K2	-,02500	,03510	,487	-,0998	,0498
		P2	,01750	,03510	,625	-,0573	,0923
		P3	,14500*	,03510	,001	,0702	,2198
P2	K1	-,01000	,03510	,780	-,0848	,0648	
	K2	-,04250	,03510	,245	-,1173	,0323	
	P1	-,01750	,03510	,625	-,0923	,0573	
	P3	,12750*	,03510	,002	,0527	,2023	
P3	K1	-,13750*	,03510	,001	-,2123	-,0627	
	K2	-,17000*	,03510	,000	-,2448	-,0952	
	P1	-,14500*	,03510	,001	-,2198	-,0702	
	P2	-,12750*	,03510	,002	-,2023	-,0527	

*. The mean difference is significant at the .05 level.

WOB

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
Duncan ^a P3	4	,3850	
P2	4		,5125
K1	4		,5225
P1	4		,5300
K2	4		,5550
Sig.		1,000	,282

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

ALH

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K1	4	5,5900	,28577	,14289	5,1353	6,0447	5,26	5,95
K2	4	5,3100	,38427	,19214	4,6985	5,9215	4,80	5,72
P1	4	5,5625	,72817	,36408	4,4038	6,7212	4,60	6,37
P2	4	5,7350	,51720	,25860	4,9120	6,5580	5,26	6,41
P3	4	5,2425	,42828	,21414	4,5610	5,9240	4,81	5,83
Total	20	5,4880	,47612	,10646	5,2652	5,7108	4,60	6,41

ANOVA

ALH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,676	4	,169	,698	,605
Within Groups	3,631	15	,242		
Total	4,307	19			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: ALH

	(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	K1	K2	,28000	,34792	,434	-,4616	1,0216
		P1	,02750	,34792	,938	-,7141	,7691
		P2	-,14500	,34792	,683	-,8866	,5966
		P3	,34750	,34792	,334	-,3941	1,0891
	K2	K1	-,28000	,34792	,434	-1,0216	,4616
		P1	-,25250	,34792	,479	-,9941	,4891
		P2	-,42500	,34792	,241	-1,1666	,3166
		P3	,06750	,34792	,849	-,6741	,8091
	P1	K1	-,02750	,34792	,938	-,7691	,7141
		K2	,25250	,34792	,479	-,4891	,9941
		P2	-,17250	,34792	,627	-,9141	,5691
		P3	,32000	,34792	,372	-,4216	1,0616
P2	K1	,14500	,34792	,683	-,5966	,8866	
	K2	,42500	,34792	,241	-,3166	1,1666	
	P1	,17250	,34792	,627	-,5691	,9141	
	P3	,49250	,34792	,177	-,2491	1,2341	
P3	K1	-,34750	,34792	,334	-1,0891	,3941	
	K2	-,06750	,34792	,849	-,8091	,6741	
	P1	-,32000	,34792	,372	-1,0616	,4216	
	P2	-,49250	,34792	,177	-1,2341	,2491	

ALH

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05
	1	1
Duncan(a)		
P3	4	5,2425
K2	4	5,3100
P1	4	5,5625
K1	4	5,5900
P2	4	5,7350
Sig.		,219

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
 a Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

AOC

Descriptives

AOC									
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	
					Lower Bound	Upper Bound			
K1	4	18,0575	2,53382	1,26691	14,0256	22,0894	15,12	20,67	
K2	4	15,9900	3,54439	1,77219	10,3501	21,6299	11,01	19,33	
P1	4	17,1450	2,80574	1,40287	12,6804	21,6096	13,86	20,69	
P2	4	18,1050	,35010	,17505	17,5479	18,6621	17,69	18,40	
P3	4	14,9975	1,02454	,51227	13,3672	16,6278	14,31	16,52	
Total	20	16,8590	2,44138	,54591	15,7164	18,0016	11,01	20,69	

ANOVA

AOC

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	29,164	4	7,291	1,301	,314
Within Groups	84,082	15	5,605		
Total	113,246	19			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: AOC

	(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	K1	K2	2,06750	1,67414	,236	-1,5008	5,6358
		P1	,91250	1,67414	,594	-2,6558	4,4808
		P2	-,04750	1,67414	,978	-3,6158	3,5208
		P3	3,06000	1,67414	,088	-,5083	6,6283
	K2	K1	-2,06750	1,67414	,236	-5,6358	1,5008
		P1	-1,15500	1,67414	,501	-4,7233	2,4133
		P2	-2,11500	1,67414	,226	-5,6833	1,4533
		P3	,99250	1,67414	,562	-2,5758	4,5608
	P1	K1	-,91250	1,67414	,594	-4,4808	2,6558
		K2	1,15500	1,67414	,501	-2,4133	4,7233
		P2	-,96000	1,67414	,575	-4,5283	2,6083
		P3	2,14750	1,67414	,219	-1,4208	5,7158
P2	K1	,04750	1,67414	,978	-3,5208	3,6158	
	K2	2,11500	1,67414	,226	-1,4533	5,6833	
	P1	,96000	1,67414	,575	-2,6083	4,5283	
	P3	3,10750	1,67414	,083	-,4608	6,6758	
P3	K1	-3,06000	1,67414	,088	-6,6283	,5083	
	K2	-,99250	1,67414	,562	-4,5608	2,5758	
	P1	-2,14750	1,67414	,219	-5,7158	1,4208	
	P2	-3,10750	1,67414	,083	-6,6758	,4608	

AOC

Perlakuan		N	Subset for alpha = .05
		1	1
Duncan(a)	P3	4	14,9975
	K2	4	15,9900
	P1	4	17,1450
	K1	4	18,0575
	P2	4	18,1050
	Sig.		,113

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

BCD**Descriptives**

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K1	4	21,6075	2,41012	1,20506	17,7725	25,4425	20,18	25,21
K2	4	21,7275	4,04518	2,02259	15,2907	28,1643	17,48	26,91
P1	4	23,5025	2,31131	1,15566	19,8247	27,1803	21,60	26,55
P2	4	20,9725	1,77978	,88989	18,1405	23,8045	18,64	22,45
P3	4	21,1450	1,26516	,63258	19,1318	23,1582	19,44	22,22
Total	20	21,7910	2,43942	,54547	20,6493	22,9327	17,48	26,91

ANOVA**BCD**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	16,217	4	4,054	,628	,650
Within Groups	96,848	15	6,457		
Total	113,065	19			

BCD

Perlakuan		N	Subset for alpha = .05
		1	1
Duncan ^a	P2	4	20,9725
	P3	4	21,1450
	K1	4	21,6075
	K2	4	21,7275
	P1	4	23,5025
	Sig.		,221

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: BCD

	(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	K1	K2	-,12000	1,79674	,948	-3,9497	3,7097
		P1	-1,89500	1,79674	,308	-5,7247	1,9347
		P2	,63500	1,79674	,729	-3,1947	4,4647
		P3	,46250	1,79674	,800	-3,3672	4,2922
	K2	K1	,12000	1,79674	,948	-3,7097	3,9497
		P1	-1,77500	1,79674	,339	-5,6047	2,0547
		P2	,75500	1,79674	,680	-3,0747	4,5847
		P3	,58250	1,79674	,750	-3,2472	4,4122
	P1	K1	1,89500	1,79674	,308	-1,9347	5,7247
		K2	1,77500	1,79674	,339	-2,0547	5,6047
		P2	2,53000	1,79674	,179	-1,2997	6,3597
		P3	2,35750	1,79674	,209	-1,4722	6,1872
P2	K1	-,63500	1,79674	,729	-4,4647	3,1947	
	K2	-,75500	1,79674	,680	-4,5847	3,0747	
	P1	-2,53000	1,79674	,179	-6,3597	1,2997	
	P3	-,17250	1,79674	,925	-4,0022	3,6572	
P3	K1	-,46250	1,79674	,800	-4,2922	3,3672	
	K2	-,58250	1,79674	,750	-4,4122	3,2472	
	P1	-2,35750	1,79674	,209	-6,1872	1,4722	
	P2	,17250	1,79674	,925	-3,6572	4,0022	

LIN

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K1	4	,3550	,02887	,01443	,3091	,4009	,32	,39
K2	4	,4150	,06028	,03014	,3191	,5109	,35	,48
P1	4	,3575	,06602	,03301	,2525	,4625	,28	,43
P2	4	,3600	,00816	,00408	,3470	,3730	,35	,37
P3	4	,3850	,05196	,02598	,3023	,4677	,33	,45
Total	20	,3745	,04883	,01092	,3516	,3974	,28	,48

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,011	4	,003	1,134	,378
Within Groups	,035	15	,002		
Total	,045	19			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: LIN

	(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	K1	K2	-,06000	,03405	,098	-,1326	,0126
		P1	-,00250	,03405	,942	-,0751	,0701
		P2	-,00500	,03405	,885	-,0776	,0676
		P3	-,03000	,03405	,392	-,1026	,0426
	K2	K1	,06000	,03405	,098	-,0126	,1326
		P1	,05750	,03405	,112	-,0151	,1301
		P2	,05500	,03405	,127	-,0176	,1276
		P3	,03000	,03405	,392	-,0426	,1026
	P1	K1	,00250	,03405	,942	-,0701	,0751
		K2	-,05750	,03405	,112	-,1301	,0151
		P2	-,00250	,03405	,942	-,0751	,0701
		P3	-,02750	,03405	,432	-,1001	,0451
P2	K1	,00500	,03405	,885	-,0676	,0776	
	K2	-,05500	,03405	,127	-,1276	,0176	
	P1	,00250	,03405	,942	-,0701	,0751	
	P3	-,02500	,03405	,474	-,0976	,0476	
P3	K1	,03000	,03405	,392	-,0426	,1026	
	K2	-,03000	,03405	,392	-,1026	,0426	
	P1	,02750	,03405	,432	-,0451	,1001	
	P2	,02500	,03405	,474	-,0476	,0976	

LIN

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05
		1
Duncan ^a K1	4	,3550
P1	4	,3575
P2	4	,3600
P3	4	,3850
K2	4	,4150
Sig.		,131

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

DAP

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K1	4	21,2125	3,89372	1,94686	15,0167	27,4083	18,24	26,94
K2	4	20,4200	2,00979	1,00490	17,2220	23,6180	18,79	22,94
P1	4	20,3850	4,18800	2,09400	13,7210	27,0490	17,14	26,52
P2	4	20,8725	3,00072	1,50036	16,0977	25,6473	18,75	25,23
P3	4	18,6925	1,71896	,85948	15,9573	21,4277	17,32	21,15
Total	20	20,3165	2,91236	,65122	18,9535	21,6795	17,14	26,94

ANOVA

DAP

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	15,059	4	3,765	,387	,815
Within Groups	146,096	15	9,740		
Total	161,155	19			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: DAP

	(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	K1	K2	,79250	2,20678	,725	-3,9111	5,4961
		P1	,82750	2,20678	,713	-3,8761	5,5311
		P2	,34000	2,20678	,880	-4,3636	5,0436
		P3	2,52000	2,20678	,271	-2,1836	7,2236
	K2	K1	-,79250	2,20678	,725	-5,4961	3,9111
		P1	,03500	2,20678	,988	-4,6686	4,7386
		P2	-,45250	2,20678	,840	-5,1561	4,2511
		P3	1,72750	2,20678	,446	-2,9761	6,4311
	P1	K1	-,82750	2,20678	,713	-5,5311	3,8761
		K2	-,03500	2,20678	,988	-4,7386	4,6686
		P2	-,48750	2,20678	,828	-5,1911	4,2161
		P3	1,69250	2,20678	,455	-3,0111	6,3961
P2	K1	-,34000	2,20678	,880	-5,0436	4,3636	
	K2	,45250	2,20678	,840	-4,2511	5,1561	
	P1	,48750	2,20678	,828	-4,2161	5,1911	
	P3	2,18000	2,20678	,339	-2,5236	6,8836	
P3	K1	-2,52000	2,20678	,271	-7,2236	2,1836	
	K2	-1,72750	2,20678	,446	-6,4311	2,9761	
	P1	-1,69250	2,20678	,455	-6,3961	3,0111	
	P2	-2,18000	2,20678	,339	-6,8836	2,5236	

DAP

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05	
		1	
Duncan ^a P3	4	18,6925	
P1	4	20,3850	
K2	4	20,4200	
P2	4	20,8725	
K1	4	21,2125	
Sig.		,317	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

DCL**Descriptives**

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
K1		4	38,9100	3,04543	1,52272	34,0640	43,7560	34,75	41,67
K2		4	39,3425	2,80015	1,40007	34,8868	43,7982	36,10	42,88
P1		4	38,4250	9,05217	4,52608	24,0210	52,8290	29,75	49,18
P2		4	41,2650	5,60431	2,80216	32,3473	50,1827	36,83	48,72
P3		4	35,3975	5,95559	2,97780	25,9208	44,8742	27,71	40,74
Total		20	38,6680	5,47654	1,22459	36,1049	41,2311	27,71	49,18

ANOVA

DCL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	72,053	4	18,013	,543	,707
Within Groups	497,804	15	33,187		
Total	569,857	19			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: DCL

		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
(I) Perlakuan	(J) Perlakuan				Lower Bound	Upper Bound	
LSD	K1	K2	-,43250	4,07351	,917	-9,1150	8,2500
		P1	,48500	4,07351	,907	-8,1975	9,1675
		P2	-2,35500	4,07351	,572	-11,0375	6,3275
		P3	3,51250	4,07351	,402	-5,1700	12,1950
	K2	K1	,43250	4,07351	,917	-8,2500	9,1150
		P1	,91750	4,07351	,825	-7,7650	9,6000
		P2	-1,92250	4,07351	,644	-10,6050	6,7600
		P3	3,94500	4,07351	,348	-4,7375	12,6275
	P1	K1	-,48500	4,07351	,907	-9,1675	8,1975
		K2	-,91750	4,07351	,825	-9,6000	7,7650
		P2	-2,84000	4,07351	,496	-11,5225	5,8425
		P3	3,02750	4,07351	,469	-5,6550	11,7100
P2	K1	2,35500	4,07351	,572	-6,3275	11,0375	
	K2	1,92250	4,07351	,644	-6,7600	10,6050	
	P1	2,84000	4,07351	,496	-5,8425	11,5225	
	P3	5,86750	4,07351	,170	-2,8150	14,5500	
P3	K1	-3,51250	4,07351	,402	-12,1950	5,1700	
	K2	-3,94500	4,07351	,348	-12,6275	4,7375	
	P1	-3,02750	4,07351	,469	-11,7100	5,6550	
	P2	-5,86750	4,07351	,170	-14,5500	2,8150	

DCL

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05
		1
Duncan ^a P3	4	35,3975
P1	4	38,4250
K1	4	38,9100
K2	4	39,3425
P2	4	41,2650
Sig.		,211

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

DSL**Descriptives**

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K1	4	15,5450	3,97878	1,98939	9,2139	21,8761	12,39	21,36
K2	4	13,8400	1,98439	,99219	10,6824	16,9976	12,06	16,44
P1	4	13,7250	3,73597	1,86799	7,7802	19,6698	9,83	18,41
P2	4	14,5200	1,83650	,91825	11,5977	17,4423	12,98	17,08
P3	4	13,1000	1,00283	,50141	11,5043	14,6957	12,31	14,42
Total	20	14,1460	2,59718	,58075	12,9305	15,3615	9,83	21,36

ANOVA**DSL**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	13,848	4	3,462	,454	,768
Within Groups	114,313	15	7,621		
Total	128,161	19			

DSL

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05
		1
Duncan ^a P3	4	13,1000
P1	4	13,7250
K2	4	13,8400
P2	4	14,5200
K1	4	15,5450
Sig.		,274

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: DSL

	(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	K1	K2	1,70500	1,95203	,396	-2,4557	5,8657
		P1	1,82000	1,95203	,366	-2,3407	5,9807
		P2	1,02500	1,95203	,607	-3,1357	5,1857
		P3	2,44500	1,95203	,230	-1,7157	6,6057
	K2	K1	-1,70500	1,95203	,396	-5,8657	2,4557
		P1	,11500	1,95203	,954	-4,0457	4,2757
		P2	-,68000	1,95203	,732	-4,8407	3,4807
		P3	,74000	1,95203	,710	-3,4207	4,9007
	P1	K1	-1,82000	1,95203	,366	-5,9807	2,3407
		K2	-,11500	1,95203	,954	-4,2757	4,0457
		P2	-,79500	1,95203	,690	-4,9557	3,3657
		P3	,62500	1,95203	,753	-3,5357	4,7857
P2	K1	-1,02500	1,95203	,607	-5,1857	3,1357	
	K2	,68000	1,95203	,732	-3,4807	4,8407	
	P1	,79500	1,95203	,690	-3,3657	4,9557	
	P3	1,42000	1,95203	,478	-2,7407	5,5807	
P3	K1	-2,44500	1,95203	,230	-6,6057	1,7157	
	K2	-,74000	1,95203	,710	-4,9007	3,4207	
	P1	-,62500	1,95203	,753	-4,7857	3,5357	
	P2	-1,42000	1,95203	,478	-5,5807	2,7407	

STR

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K1	4	,3550	,02887	,01443	,3091	,4009	,32	,39
K2	4	,4150	,06028	,03014	,3191	,5109	,35	,48
P1	4	,3575	,06602	,03301	,2525	,4625	,28	,43
P2	4	,3600	,00816	,00408	,3470	,3730	,35	,37
P3	4	,3850	,05196	,02598	,3023	,4677	,33	,45
Total	20	,3745	,04883	,01092	,3516	,3974	,28	,48

ANOVA

STR

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,011	4	,003	1,134	,378
Within Groups	,035	15	,002		
Total	,045	19			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: STR

	(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	K1	K2	-,06000	,03405	,098	-,1326	,0126
		P1	-,00250	,03405	,942	-,0751	,0701
		P2	-,00500	,03405	,885	-,0776	,0676
		P3	-,03000	,03405	,392	-,1026	,0426
	K2	K1	,06000	,03405	,098	-,0126	,1326
		P1	,05750	,03405	,112	-,0151	,1301
		P2	,05500	,03405	,127	-,0176	,1276
		P3	,03000	,03405	,392	-,0426	,1026
	P1	K1	,00250	,03405	,942	-,0701	,0751
		K2	-,05750	,03405	,112	-,1301	,0151
		P2	-,00250	,03405	,942	-,0751	,0701
		P3	-,02750	,03405	,432	-,1001	,0451
P2	K1	,00500	,03405	,885	-,0676	,0776	
	K2	-,05500	,03405	,127	-,1276	,0176	
	P1	,00250	,03405	,942	-,0701	,0751	
	P3	-,02500	,03405	,474	-,0976	,0476	
P3	K1	,03000	,03405	,392	-,0426	,1026	
	K2	-,03000	,03405	,392	-,1026	,0426	
	P1	,02750	,03405	,432	-,0451	,1001	
	P2	,02500	,03405	,474	-,0476	,0976	

STR

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05
		1
Duncan ^a K1	4	,3550
P1	4	,3575
P2	4	,3600
P3	4	,3850
K2	4	,4150
Sig.		,131

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

SETELAH PEMBEKUAN

Motilitas

Descriptives

motilitas								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
k1	4	47,0000	2,94392	1,47196	42,3156	51,6844	44,00	50,00
k2	4	39,1750	1,39613	,69806	36,9535	41,3965	37,10	40,00
p1	4	48,2500	4,52364	2,26182	41,0519	55,4481	43,20	53,60
p2	4	48,4000	4,29651	2,14826	41,5633	55,2367	42,90	52,20
p3	4	45,7750	3,15423	1,57711	40,7559	50,7941	41,20	48,10
Total	20	45,7200	4,64935	1,03963	43,5440	47,8960	37,10	53,60

ANOVA

motilitas					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	232,247	4	58,062	4,880	,010
Within Groups	178,465	15	11,898		
Total	410,712	19			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: motilitas

	(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	k1	k2	7,82500*	2,43902	,006	2,6263	13,0237
		p1	-1,25000	2,43902	,616	-6,4487	3,9487
		p2	-1,40000	2,43902	,574	-6,5987	3,7987
		p3	1,22500	2,43902	,623	-3,9737	6,4237
	k2	k1	-7,82500*	2,43902	,006	-13,0237	-2,6263
		p1	-9,07500*	2,43902	,002	-14,2737	-3,8763
		p2	-9,22500*	2,43902	,002	-14,4237	-4,0263
		p3	-6,60000*	2,43902	,016	-11,7987	-1,4013
	p1	k1	1,25000	2,43902	,616	-3,9487	6,4487
		k2	9,07500*	2,43902	,002	3,8763	14,2737
		p2	-,15000	2,43902	,952	-5,3487	5,0487
		p3	2,47500	2,43902	,326	-2,7237	7,6737
p2	k1	1,40000	2,43902	,574	-3,7987	6,5987	
	k2	9,22500*	2,43902	,002	4,0263	14,4237	
	p1	,15000	2,43902	,952	-5,0487	5,3487	
	p3	2,62500	2,43902	,299	-2,5737	7,8237	
p3	k1	-1,22500	2,43902	,623	-6,4237	3,9737	
	k2	6,60000*	2,43902	,016	1,4013	11,7987	
	p1	-2,47500	2,43902	,326	-7,6737	2,7237	
	p2	-2,62500	2,43902	,299	-7,8237	2,5737	

*. The mean difference is significant at the .05 level.

motilitas

perlakuan	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
Duncan ^a k2	4	39,1750	
p3	4		45,7750
k1	4		47,0000
p1	4		48,2500
p2	4		48,4000
Sig.		1,000	,337

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

Viabilitas**Descriptives**

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
k1	4	50,0000	2,94392	1,47196	45,3156	54,6844	47,00	53,00
k2	4	44,0000	1,41421	,70711	41,7497	46,2503	42,00	45,00
p1	4	50,7500	3,59398	1,79699	45,0312	56,4688	46,00	54,00
p2	4	54,0000	,81650	,40825	52,7008	55,2992	53,00	55,00
p3	4	48,2500	4,11299	2,05649	41,7053	54,7947	43,00	52,00
Total	20	49,4000	4,22275	,94423	47,4237	51,3763	42,00	55,00

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	215,300	4	53,825	6,537	,003
Within Groups	123,500	15	8,233		
Total	338,800	19			

viabilitas

perlakuan	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
Duncan ^a k2	4	44,0000		
p3	4	48,2500	48,2500	
k1	4		50,0000	50,0000
p1	4		50,7500	50,7500
p2	4			54,0000
Sig.		,054	,261	,080

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: viabilitas

	(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	k1	k2	6,00000*	2,02896	,010	1,6754	10,3246
		p1	-,75000	2,02896	,717	-5,0746	3,5746
		p2	-4,00000	2,02896	,067	-8,3246	,3246
		p3	1,75000	2,02896	,402	-2,5746	6,0746
	k2	k1	-6,00000*	2,02896	,010	-10,3246	-1,6754
		p1	-6,75000*	2,02896	,005	-11,0746	-2,4254
		p2	-10,00000*	2,02896	,000	-14,3246	-5,6754
		p3	-4,25000	2,02896	,054	-8,5746	,0746
	p1	k1	,75000	2,02896	,717	-3,5746	5,0746
		k2	6,75000*	2,02896	,005	2,4254	11,0746
		p2	-3,25000	2,02896	,130	-7,5746	1,0746
		p3	2,50000	2,02896	,237	-1,8246	6,8246
p2	k1	4,00000	2,02896	,067	-,3246	8,3246	
	k2	10,00000*	2,02896	,000	5,6754	14,3246	
	p1	3,25000	2,02896	,130	-1,0746	7,5746	
	p3	5,75000*	2,02896	,013	1,4254	10,0746	
p3	k1	-1,75000	2,02896	,402	-6,0746	2,5746	
	k2	4,25000	2,02896	,054	-,0746	8,5746	
	p1	-2,50000	2,02896	,237	-6,8246	1,8246	
	p2	-5,75000*	2,02896	,013	-10,0746	-1,4254	

*. The mean difference is significant at the .05 level.

MPU

Descriptives

MPU

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
k1	4	50,5000	1,29099	,64550	48,4457	52,5543	49,00	52,00
k2	4	44,2500	,95743	,47871	42,7265	45,7735	43,00	45,00
p1	4	45,4250	1,47958	,73979	43,0707	47,7793	44,00	47,50
p2	4	51,8000	1,69706	,84853	49,0996	54,5004	49,80	53,40
p3	4	49,7250	,98446	,49223	48,1585	51,2915	48,90	51,00
Total	20	48,3400	3,25243	,72727	46,8178	49,8622	43,00	53,40

ANOVA

MPU

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	175,123	4	43,781	25,390	,000
Within Groups	25,865	15	1,724		
Total	200,988	19			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: MPU

	(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	k1	k2	6,25000*	,92853	,000	4,2709	8,2291
		p1	5,07500*	,92853	,000	3,0959	7,0541
		p2	-1,30000	,92853	,182	-3,2791	,6791
		p3	,77500	,92853	,417	-1,2041	2,7541
	k2	k1	-6,25000*	,92853	,000	-8,2291	-4,2709
		p1	-1,17500	,92853	,225	-3,1541	,8041
		p2	-7,55000*	,92853	,000	-9,5291	-5,5709
		p3	-5,47500*	,92853	,000	-7,4541	-3,4959
	p1	k1	-5,07500*	,92853	,000	-7,0541	-3,0959
		k2	1,17500	,92853	,225	-,8041	3,1541
		p2	-6,37500*	,92853	,000	-8,3541	-4,3959
		p3	-4,30000*	,92853	,000	-6,2791	-2,3209
	p2	k1	1,30000	,92853	,182	-,6791	3,2791
		k2	7,55000*	,92853	,000	5,5709	9,5291
		p1	6,37500*	,92853	,000	4,3959	8,3541
		p3	2,07500*	,92853	,041	,0959	4,0541
	p3	k1	-,77500	,92853	,417	-2,7541	1,2041
		k2	5,47500*	,92853	,000	3,4959	7,4541
		p1	4,30000*	,92853	,000	2,3209	6,2791
		p2	-2,07500*	,92853	,041	-4,0541	-,0959

*. The mean difference is significant at the .05 level.

MPU

perlakuan	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
Duncan(a)				
k2	4	44,2500		
p1	4	45,4250		
p3	4		49,7250	
k1	4		50,5000	50,5000
p2	4			51,8000
Sig.			,225	,417
				,182

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

TAU

Descriptives

TAU

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
k1	4	49,5500	2,10000	1,05000	46,2084	52,8916	47,00	52,00
k2	4	41,8750	1,72313	,86156	39,1331	44,6169	40,00	43,90
p1	4	46,0000	1,52534	,76267	43,5728	48,4272	44,30	48,00
p2	4	52,6725	2,26444	1,13222	49,0693	56,2757	49,80	54,89
p3	4	49,3750	2,67005	1,33502	45,1264	53,6236	45,70	52,10
Total	20	47,8945	4,20670	,94065	45,9257	49,8633	40,00	54,89

ANOVA

TAU

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	270,341	4	67,585	15,386	,000
Within Groups	65,888	15	4,393		
Total	336,229	19			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: TAU

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
					Lower Bound	Upper Bound	
LSD	k1	k2	7,67500*	1,48198	,000	4,5162	10,8338
		p1	3,55000*	1,48198	,030	,3912	6,7088
		p2	-3,12250	1,48198	,052	-6,2813	,0363
		p3	,17500	1,48198	,908	-2,9838	3,3338
	k2	k1	-7,67500*	1,48198	,000	-10,8338	-4,5162
		p1	-4,12500*	1,48198	,014	-7,2838	-,9662
		p2	-10,79750*	1,48198	,000	-13,9563	-7,6387
		p3	-7,50000*	1,48198	,000	-10,6588	-4,3412
	p1	k1	-3,55000*	1,48198	,030	-6,7088	-,3912
		k2	4,12500*	1,48198	,014	,9662	7,2838
		p2	-6,67250*	1,48198	,000	-9,8313	-3,5137
		p3	-3,37500*	1,48198	,038	-6,5338	-,2162
p2	k1	3,12250	1,48198	,052	-,0363	6,2813	
	k2	10,79750*	1,48198	,000	7,6387	13,9563	
	p1	6,67250*	1,48198	,000	3,5137	9,8313	
	p3	3,29750*	1,48198	,042	,1387	6,4563	
p3	k1	-,17500	1,48198	,908	-3,3338	2,9838	
	k2	7,50000*	1,48198	,000	4,3412	10,6588	
	p1	3,37500*	1,48198	,038	,2162	6,5338	
	p2	-3,29750*	1,48198	,042	-6,4563	-,1387	

*. The mean difference is significant at the .05 level.

TAU

perlakuan		N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3	1
Duncan(a)	k2	4	41,8750		
	p1	4		46,0000	
	p3	4			49,3750
	k1	4			49,5500
	p2	4			52,6725
	Sig.			1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

POLA PERGERAKAN

VAP

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					K1	4		
K2	4	39,6775	5,22992	2,61496	31,3555	47,9995	34,30	46,64
P1	4	50,5875	13,45500	6,72750	29,1776	71,9974	36,00	62,04
P2	4	42,4350	5,23220	2,61610	34,1094	50,7606	37,27	49,62
P3	4	56,7325	32,13159	16,06580	5,6040	107,8610	36,55	104,60
Total	20	46,3015	15,63293	3,49563	38,9851	53,6179	34,30	104,60

ANOVA

VAP

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	815,464	4	203,866	,799	,544
Within Groups	3827,918	15	255,195		
Total	4643,382	19			

VAP

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05
		1
Duncan ^a K2	4	39,6775
K1	4	42,0750
P2	4	42,4350
P1	4	50,5875
P3	4	56,7325
Sig.		,191

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: VAP

	(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	K1	K2	2,39750	11,29590	,835	-21,6791	26,4741
		P1	-8,51250	11,29590	,463	-32,5891	15,5641
		P2	-,36000	11,29590	,975	-24,4366	23,7166
		P3	-14,65750	11,29590	,214	-38,7341	9,4191
	K2	K1	-2,39750	11,29590	,835	-26,4741	21,6791
		P1	-10,91000	11,29590	,349	-34,9866	13,1666
		P2	-2,75750	11,29590	,810	-26,8341	21,3191
		P3	-17,05500	11,29590	,152	-41,1316	7,0216
	P1	K1	8,51250	11,29590	,463	-15,5641	32,5891
		K2	10,91000	11,29590	,349	-13,1666	34,9866
		P2	8,15250	11,29590	,482	-15,9241	32,2291
		P3	-6,14500	11,29590	,594	-30,2216	17,9316
P2	K1	,36000	11,29590	,975	-23,7166	24,4366	
	K2	2,75750	11,29590	,810	-21,3191	26,8341	
	P1	-8,15250	11,29590	,482	-32,2291	15,9241	
	P3	-14,29750	11,29590	,225	-38,3741	9,7791	
P3	K1	14,65750	11,29590	,214	-9,4191	38,7341	
	K2	17,05500	11,29590	,152	-7,0216	41,1316	
	P1	6,14500	11,29590	,594	-17,9316	30,2216	
	P2	14,29750	11,29590	,225	-9,7791	38,3741	

VCL

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K1	4	76,4975	11,09511	5,54755	58,8427	94,1523	62,70	86,39
K2	4	72,7375	4,25148	2,12574	65,9724	79,5026	68,56	78,50
P1	4	81,8250	19,50514	9,75257	50,7880	112,8620	65,08	104,50
P2	4	87,5575	25,98212	12,99106	46,2142	128,9008	68,72	125,30
P3	4	92,9525	36,06811	18,03405	35,5601	150,3449	67,04	145,90
Total	20	82,3140	21,22390	4,74581	72,3809	92,2471	62,70	145,90

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1065,808	4	266,452	,533	,713
Within Groups	7492,817	15	499,521		
Total	8558,626	19			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: VCL

	(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	K1	K2	3,76000	15,80382	,815	-29,9250	37,4450
		P1	-5,32750	15,80382	,741	-39,0125	28,3575
		P2	-11,06000	15,80382	,495	-44,7450	22,6250
		P3	-16,45500	15,80382	,314	-50,1400	17,2300
	K2	K1	-3,76000	15,80382	,815	-37,4450	29,9250
		P1	-9,08750	15,80382	,574	-42,7725	24,5975
		P2	-14,82000	15,80382	,363	-48,5050	18,8650
		P3	-20,21500	15,80382	,220	-53,9000	13,4700
	P1	K1	5,32750	15,80382	,741	-28,3575	39,0125
		K2	9,08750	15,80382	,574	-24,5975	42,7725
		P2	-5,73250	15,80382	,722	-39,4175	27,9525
		P3	-11,12750	15,80382	,492	-44,8125	22,5575
P2	K1	11,06000	15,80382	,495	-22,6250	44,7450	
	K2	14,82000	15,80382	,363	-18,8650	48,5050	
	P1	5,73250	15,80382	,722	-27,9525	39,4175	
	P3	-5,39500	15,80382	,738	-39,0800	28,2900	
P3	K1	16,45500	15,80382	,314	-17,2300	50,1400	
	K2	20,21500	15,80382	,220	-13,4700	53,9000	
	P1	11,12750	15,80382	,492	-22,5575	44,8125	
	P2	5,39500	15,80382	,738	-28,2900	39,0800	

VCL

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05
		1
Duncan ^a K2	4	72,7375
K1	4	76,4975
P1	4	81,8250
P2	4	87,5575
P3	4	92,9525
Sig.		,264

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

VSL

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K1	4	30,8675	4,38894	2,19447	23,8837	37,8513	26,84	35,43
K2	4	28,9325	7,40208	3,70104	17,1541	40,7109	20,15	38,25
P1	4	38,3450	12,72157	6,36078	18,1021	58,5879	21,68	49,29
P2	4	29,0025	3,27180	1,63590	23,7963	34,2087	24,60	32,48
P3	4	46,9675	33,50616	16,75308	-6,3483	100,2833	24,87	96,84
Total	20	34,8230	16,35823	3,65781	27,1671	42,4789	20,15	96,84

ANOVA

VSL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	976,462	4	244,116	,891	,493
Within Groups	4107,779	15	273,852		
Total	5084,241	19			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: VSL

	(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	K1	K2	1,93500	11,70154	,871	-23,0062	26,8762
		P1	-7,47750	11,70154	,532	-32,4187	17,4637
		P2	1,86500	11,70154	,875	-23,0762	26,8062
		P3	-16,10000	11,70154	,189	-41,0412	8,8412
	K2	K1	-1,93500	11,70154	,871	-26,8762	23,0062
		P1	-9,41250	11,70154	,434	-34,3537	15,5287
		P2	-,07000	11,70154	,995	-25,0112	24,8712
		P3	-18,03500	11,70154	,144	-42,9762	6,9062
	P1	K1	7,47750	11,70154	,532	-17,4637	32,4187
		K2	9,41250	11,70154	,434	-15,5287	34,3537
		P2	9,34250	11,70154	,437	-15,5987	34,2837
		P3	-8,62250	11,70154	,473	-33,5637	16,3187
P2	K1	-1,86500	11,70154	,875	-26,8062	23,0762	
	K2	,07000	11,70154	,995	-24,8712	25,0112	
	P1	-9,34250	11,70154	,437	-34,2837	15,5987	
	P3	-17,96500	11,70154	,146	-42,9062	6,9762	
P3	K1	16,10000	11,70154	,189	-8,8412	41,0412	
	K2	18,03500	11,70154	,144	-6,9062	42,9762	
	P1	8,62250	11,70154	,473	-16,3187	33,5637	
	P2	17,96500	11,70154	,146	-6,9762	42,9062	

VSL

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05
		1
Duncan ^a K2	4	28,9325
P2	4	29,0025
K1	4	30,8675
P1	4	38,3450
P3	4	46,9675
Sig.		,183

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

WOB**Descriptives**

WOB

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K1	4	,5600	,08485	,04243	,4250	,6950	,48	,68
K2	4	,5400	,04690	,02345	,4654	,6146	,50	,59
P1	4	,6150	,05686	,02843	,5245	,7055	,55	,68
P2	4	,5000	,08602	,04301	,3631	,6369	,39	,59
P3	4	,5925	,12038	,06019	,4009	,7841	,43	,72
Total	20	,5615	,08456	,01891	,5219	,6011	,39	,72

ANOVA

WOB

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,032	4	,008	1,169	,364
Within Groups	,104	15	,007		
Total	,136	19			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: WOB

	(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	K1	K2	,02000	,05876	,738	-,1052	,1452
		P1	-,05500	,05876	,364	-,1802	,0702
		P2	,06000	,05876	,323	-,0652	,1852
		P3	-,03250	,05876	,588	-,1577	,0927
	K2	K1	-,02000	,05876	,738	-,1452	,1052
		P1	-,07500	,05876	,221	-,2002	,0502
		P2	,04000	,05876	,506	-,0852	,1652
		P3	-,05250	,05876	,386	-,1777	,0727
	P1	K1	,05500	,05876	,364	-,0702	,1802
		K2	,07500	,05876	,221	-,0502	,2002
		P2	,11500	,05876	,069	-,0102	,2402
		P3	,02250	,05876	,707	-,1027	,1477
P2	K1	-,06000	,05876	,323	-,1852	,0652	
	K2	-,04000	,05876	,506	-,1652	,0852	
	P1	-,11500	,05876	,069	-,2402	,0102	
	P3	-,09250	,05876	,136	-,2177	,0327	
P3	K1	,03250	,05876	,588	-,0927	,1577	
	K2	,05250	,05876	,386	-,0727	,1777	
	P1	-,02250	,05876	,707	-,1477	,1027	
	P2	,09250	,05876	,136	-,0327	,2177	

WOB

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05
		1
Duncan ^a P2	4	,5000
K2	4	,5400
K1	4	,5600
P3	4	,5925
P1	4	,6150
Sig.		,096

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

ALH**Descriptives**

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K1	4	5,2025	,29159	,14580	4,7385	5,6665	4,89	5,58
K2	4	4,7500	,98887	,49444	3,1765	6,3235	3,43	5,71
P1	4	6,0475	2,67515	1,33757	1,7907	10,3043	3,58	9,37
P2	4	5,0250	,74942	,37471	3,8325	6,2175	4,13	5,93
P3	4	6,2625	3,69070	1,84535	,3898	12,1352	3,89	11,71
Total	20	5,4575	1,97620	,44189	4,5326	6,3824	3,43	11,71

ANOVA**ALH**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6,995	4	1,749	,390	,812
Within Groups	67,207	15	4,480		
Total	74,202	19			

ALH

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05
		1
Duncan ^a K2	4	4,7500
P2	4	5,0250
K1	4	5,2025
P1	4	6,0475
P3	4	6,2625
Sig.		,374

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

AOC

Descriptives

AOC									
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	
					Lower Bound	Upper Bound			
K1	4	13,2675	2,10579	1,05290	9,9167	16,6183	10,52	15,58	
K2	4	17,7125	3,71619	1,85810	11,7992	23,6258	13,72	21,80	
P1	4	14,0200	5,52275	2,76137	5,2321	22,8079	10,02	22,16	
P2	4	17,0575	3,94952	1,97476	10,7729	23,3421	13,42	22,52	
P3	4	12,4500	1,42588	,71294	10,1811	14,7189	10,79	13,76	
Total	20	14,9015	3,88762	,86930	13,0820	16,7210	10,02	22,52	

ANOVA

AOC

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	88,028	4	22,007	1,658	,212
Within Groups	199,131	15	13,275		
Total	287,159	19			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: AOC

	(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	K1	K2	-4,44500	2,57637	,105	-9,9364	1,0464
		P1	-,75250	2,57637	,774	-6,2439	4,7389
		P2	-3,79000	2,57637	,162	-9,2814	1,7014
		P3	,81750	2,57637	,755	-4,6739	6,3089
	K2	K1	4,44500	2,57637	,105	-1,0464	9,9364
		P1	3,69250	2,57637	,172	-1,7989	9,1839
		P2	,65500	2,57637	,803	-4,8364	6,1464
		P3	5,26250	2,57637	,059	-,2289	10,7539
	P1	K1	,75250	2,57637	,774	-4,7389	6,2439
		K2	-3,69250	2,57637	,172	-9,1839	1,7989
		P2	-3,03750	2,57637	,257	-8,5289	2,4539
		P3	1,57000	2,57637	,551	-3,9214	7,0614
P2	K1	3,79000	2,57637	,162	-1,7014	9,2814	
	K2	-,65500	2,57637	,803	-6,1464	4,8364	
	P1	3,03750	2,57637	,257	-2,4539	8,5289	
	P3	4,60750	2,57637	,094	-,8839	10,0989	
P3	K1	-,81750	2,57637	,755	-6,3089	4,6739	
	K2	-5,26250	2,57637	,059	-10,7539	,2289	
	P1	-1,57000	2,57637	,551	-7,0614	3,9214	
	P2	-4,60750	2,57637	,094	-10,0989	,8839	

AOC

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05
		1
Duncan ^a P3	4	12,4500
K1	4	13,2675
P1	4	14,0200
P2	4	17,0575
K2	4	17,7125
Sig.		,083

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

BCD**Descriptives**

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K1	4	19,4525	2,63075	1,31537	15,2664	23,6386	16,33	22,54
K2	4	23,7025	9,68456	4,84228	8,2922	39,1128	13,24	36,59
P1	4	18,9425	4,49241	2,24621	11,7941	26,0909	13,92	24,37
P2	4	23,7925	3,52071	1,76036	18,1903	29,3947	18,84	26,73
P3	4	22,6675	3,96397	1,98199	16,3599	28,9751	18,97	27,13
Total	20	21,7115	5,30601	1,18646	19,2282	24,1948	13,24	36,59

ANOVA**BCD**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	87,916	4	21,979	,738	,581
Within Groups	447,005	15	29,800		
Total	534,921	19			

BCD

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05
		1
Duncan ^a P1	4	18,9425
K1	4	19,4525
P3	4	22,6675
K2	4	23,7025
P2	4	23,7925
Sig.		,273

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: BCD

	(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	K1	K2	-4,25000	3,86007	,288	-12,4776	3,9776
		P1	,51000	3,86007	,897	-7,7176	8,7376
		P2	-4,34000	3,86007	,279	-12,5676	3,8876
		P3	-3,21500	3,86007	,418	-11,4426	5,0126
	K2	K1	4,25000	3,86007	,288	-3,9776	12,4776
		P1	4,76000	3,86007	,237	-3,4676	12,9876
		P2	-,09000	3,86007	,982	-8,3176	8,1376
		P3	1,03500	3,86007	,792	-7,1926	9,2626
	P1	K1	-,51000	3,86007	,897	-8,7376	7,7176
		K2	-4,76000	3,86007	,237	-12,9876	3,4676
		P2	-4,85000	3,86007	,228	-13,0776	3,3776
		P3	-3,72500	3,86007	,350	-11,9526	4,5026
P2	K1	4,34000	3,86007	,279	-3,8876	12,5676	
	K2	,09000	3,86007	,982	-8,1376	8,3176	
	P1	4,85000	3,86007	,228	-3,3776	13,0776	
	P3	1,12500	3,86007	,775	-7,1026	9,3526	
P3	K1	3,21500	3,86007	,418	-5,0126	11,4426	
	K2	-1,03500	3,86007	,792	-9,2626	7,1926	
	P1	3,72500	3,86007	,350	-4,5026	11,9526	
	P2	-1,12500	3,86007	,775	-9,3526	7,1026	

LIN

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K1	4	,4150	,10847	,05424	,2424	,5876	,32	,57
K2	4	,3950	,08185	,04093	,2648	,5252	,29	,49
P1	4	,4600	,09018	,04509	,3165	,6035	,33	,53
P2	4	,3500	,09416	,04708	,2002	,4998	,23	,46
P3	4	,5175	,09500	,04750	,3663	,6687	,47	,66
Total	20	,4275	,10233	,02288	,3796	,4754	,23	,66

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,066	4	,016	1,840	,174
Within Groups	,133	15	,009		
Total	,199	19			

LIN

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
Duncan ^a P2	4	,3500	
K2	4	,3950	,3950
K1	4	,4150	,4150
P1	4	,4600	,4600
P3	4		,5175
Sig.		,149	,110

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: LIN

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
					Lower Bound	Upper Bound	
LSD	K1	K2	,02000	,06670	,768	-,1222	,1622
		P1	-,04500	,06670	,510	-,1872	,0972
		P2	,06500	,06670	,345	-,0772	,2072
		P3	-,10250	,06670	,145	-,2447	,0397
	K2	K1	-,02000	,06670	,768	-,1622	,1222
		P1	-,06500	,06670	,345	-,2072	,0772
		P2	,04500	,06670	,510	-,0972	,1872
		P3	-,12250	,06670	,086	-,2647	,0197
	P1	K1	,04500	,06670	,510	-,0972	,1872
		K2	,06500	,06670	,345	-,0772	,2072
		P2	,11000	,06670	,120	-,0322	,2522
		P3	-,05750	,06670	,402	-,1997	,0847
P2	K1	-,06500	,06670	,345	-,2072	,0772	
	K2	-,04500	,06670	,510	-,1872	,0972	
	P1	-,11000	,06670	,120	-,2522	,0322	
	P3	-,16750*	,06670	,024	-,3097	-,0253	
P3	K1	,10250	,06670	,145	-,0397	,2447	
	K2	,12250	,06670	,086	-,0197	,2647	
	P1	,05750	,06670	,402	-,0847	,1997	
	P2	,16750*	,06670	,024	,0253	,3097	

*. The mean difference is significant at the .05 level.

DAP

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K1	4	17,5750	1,47649	,73825	15,2256	19,9244	15,93	19,46
K2	4	15,4575	1,95218	,97609	12,3511	18,5639	13,82	17,93
P1	4	20,2650	5,82462	2,91231	10,9967	29,5333	14,78	25,71
P2	4	16,8425	2,19144	1,09572	13,3554	20,3296	14,61	19,86
P3	4	22,9250	11,82213	5,91106	4,1134	41,7366	15,21	40,53
Total	20	18,6130	6,04985	1,35279	15,7816	21,4444	13,82	40,53

ANOVA

DAP

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	141,967	4	35,492	,962	,457
Within Groups	553,447	15	36,896		
Total	695,414	19			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: DAP

	(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	K1	K2	2,11750	4,29514	,629	-7,0374	11,2724
		P1	-2,69000	4,29514	,541	-11,8449	6,4649
		P2	,73250	4,29514	,867	-8,4224	9,8874
		P3	-5,35000	4,29514	,232	-14,5049	3,8049
	K2	K1	-2,11750	4,29514	,629	-11,2724	7,0374
		P1	-4,80750	4,29514	,281	-13,9624	4,3474
		P2	-1,38500	4,29514	,752	-10,5399	7,7699
		P3	-7,46750	4,29514	,103	-16,6224	1,6874
	P1	K1	2,69000	4,29514	,541	-6,4649	11,8449
		K2	4,80750	4,29514	,281	-4,3474	13,9624
		P2	3,42250	4,29514	,438	-5,7324	12,5774
		P3	-2,66000	4,29514	,545	-11,8149	6,4949
P2	K1	-,73250	4,29514	,867	-9,8874	8,4224	
	K2	1,38500	4,29514	,752	-7,7699	10,5399	
	P1	-3,42250	4,29514	,438	-12,5774	5,7324	
	P3	-6,08250	4,29514	,177	-15,2374	3,0724	
P3	K1	5,35000	4,29514	,232	-3,8049	14,5049	
	K2	7,46750	4,29514	,103	-1,6874	16,6224	
	P1	2,66000	4,29514	,545	-6,4949	11,8149	
	P2	6,08250	4,29514	,177	-3,0724	15,2374	

DAP

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05
		1
Duncan ^a K2	4	15,4575
P2	4	16,8425
K1	4	17,5750
P1	4	20,2650
P3	4	22,9250
Sig.		,136

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

DCL**Descriptives**

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K1	4	31,9425	3,71625	1,85812	26,0291	37,8559	28,38	36,59
K2	4	28,7175	,96241	,48120	27,1861	30,2489	27,75	29,56
P1	4	33,6850	8,83089	4,41545	19,6331	47,7369	25,11	43,80
P2	4	34,9525	10,48131	5,24065	18,2744	51,6306	27,14	49,90
P3	4	38,7275	13,14484	6,57242	17,8111	59,6439	29,22	57,74
Total	20	33,6050	8,41350	1,88132	29,6674	37,5426	25,11	57,74

ANOVA

DCL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	218,855	4	54,714	,729	,586
Within Groups	1126,098	15	75,073		
Total	1344,953	19			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: DCL

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
					Lower Bound	Upper Bound	
LSD	K1	K2	3,22500	6,12671	,606	-9,8338	16,2838
		P1	-1,74250	6,12671	,780	-14,8013	11,3163
		P2	-3,01000	6,12671	,630	-16,0688	10,0488
		P3	-6,78500	6,12671	,286	-19,8438	6,2738
	K2	K1	-3,22500	6,12671	,606	-16,2838	9,8338
		P1	-4,96750	6,12671	,430	-18,0263	8,0913
		P2	-6,23500	6,12671	,325	-19,2938	6,8238
		P3	-10,01000	6,12671	,123	-23,0688	3,0488
	P1	K1	1,74250	6,12671	,780	-11,3163	14,8013
		K2	4,96750	6,12671	,430	-8,0913	18,0263
		P2	-1,26750	6,12671	,839	-14,3263	11,7913
		P3	-5,04250	6,12671	,423	-18,1013	8,0163
P2	K1	3,01000	6,12671	,630	-10,0488	16,0688	
	K2	6,23500	6,12671	,325	-6,8238	19,2938	
	P1	1,26750	6,12671	,839	-11,7913	14,3263	
	P3	-3,77500	6,12671	,547	-16,8338	9,2838	
P3	K1	6,78500	6,12671	,286	-6,2738	19,8438	
	K2	10,01000	6,12671	,123	-3,0488	23,0688	
	P1	5,04250	6,12671	,423	-8,0163	18,1013	
	P2	3,77500	6,12671	,547	-9,2838	16,8338	

DCL

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05
		1
Duncan ^a K2	4	28,7175
K1	4	31,9425
P1	4	33,6850
P2	4	34,9525
P3	4	38,7275
Sig.		,159

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

DSL**Descriptives**

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K1	4	12,8625	2,38564	1,19282	9,0664	16,6586	10,89	16,11
K2	4	11,2350	2,80577	1,40289	6,7704	15,6996	8,12	14,94
P1	4	15,2550	5,17631	2,58815	7,0183	23,4917	9,09	19,57
P2	4	11,5325	1,35096	,67548	9,3828	13,6822	9,63	12,53
P3	4	18,7875	12,74413	6,37206	-1,4912	39,0662	10,01	37,72
Total	20	13,9345	6,37343	1,42514	10,9516	16,9174	8,12	37,72

ANOVA**DSL**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	158,006	4	39,501	,965	,455
Within Groups	613,787	15	40,919		
Total	771,793	19			

DSL

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05
		1
Duncan ^a K2	4	11,2350
P2	4	11,5325
K1	4	12,8625
P1	4	15,2550
P3	4	18,7875
Sig.		,151

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: DSL

	(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	K1	K2	1,62750	4,52323	,724	-8,0135	11,2685
		P1	-2,39250	4,52323	,605	-12,0335	7,2485
		P2	1,33000	4,52323	,773	-8,3110	10,9710
		P3	-5,92500	4,52323	,210	-15,5660	3,7160
	K2	K1	-1,62750	4,52323	,724	-11,2685	8,0135
		P1	-4,02000	4,52323	,388	-13,6610	5,6210
		P2	-,29750	4,52323	,948	-9,9385	9,3435
		P3	-7,55250	4,52323	,116	-17,1935	2,0885
	P1	K1	2,39250	4,52323	,605	-7,2485	12,0335
		K2	4,02000	4,52323	,388	-5,6210	13,6610
		P2	3,72250	4,52323	,423	-5,9185	13,3635
		P3	-3,53250	4,52323	,447	-13,1735	6,1085
P2	K1	-1,33000	4,52323	,773	-10,9710	8,3110	
	K2	,29750	4,52323	,948	-9,3435	9,9385	
	P1	-3,72250	4,52323	,423	-13,3635	5,9185	
	P3	-7,25500	4,52323	,130	-16,8960	2,3860	
P3	K1	5,92500	4,52323	,210	-3,7160	15,5660	
	K2	7,55250	4,52323	,116	-2,0885	17,1935	
	P1	3,53250	4,52323	,447	-6,1085	13,1735	
	P2	7,25500	4,52323	,130	-2,3860	16,8960	

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama **Zahra Jinan Fadilla** atau biasa dipanggil **Zahra** lahir di Makassar, pada tanggal 24 Oktober 1999. Penulis lahir dan besar di Makassar. Penulis lahir dari ayah yang bernama Ir. Muhammad Siarah. M, Si dan ibu bernama Ir. Umyy Riasari. Penulis merupakan keturunan suku tolaki dan bugis bone dan merupakan anak kedua dari tiga bersaudara.

Penulis memiliki riwayat sekolah dan telah menyelesaikan pendidikannya yang dimulai dari Taman Kanak-kanak pada tahun 2005 di TK Teratai Makassar, lalu lanjut ke Sekolah Dasar pada tahun 2006 di SD Pertiwi Makassar, setelah itu lanjut ke Sekolah Menengah Pertama pada tahun 2011 di SMP Negeri 3 Makassar. Akhirnya berlanjut di Sekolah Menengah Atas pada tahun 2014 di SMA Negeri 3 Makassar. Penulis menyelesaikan studi S1nya di Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin pada tahun 2021. Kemudian, kembali melanjutkan studi S2 di Fakultas Peternakan di Universitas Hasanuddin pada akhir tahun 2021.