

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kambing Saanen (*Capra aegagrus hircus*) merupakan salah satu ras kambing perah unggulan yang berasal dari Lembah Saanen, Swiss. Kambing ini dikenal karena produktivitas susunya yang tinggi, dengan rata-rata produksi mencapai 3–4 liter per hari dan kadar lemak susu sekitar 3–4% (Devendra dan Burns., 2019). Kelebihan lain dari kambing Saanen adalah sifatnya yang jinak, daya adaptasi yang baik terhadap berbagai lingkungan, serta tingkat fertilitas yang relatif tinggi, menjadikannya pilihan utama dalam industri peternakan kambing perah (Jenkins dan Sumner., 2020). Meskipun memiliki berbagai keunggulan, kambing Saanen memiliki tantangan dalam beradaptasi dengan iklim panas dan tropis. Stres lingkungan, pakan yang tidak mencukupi, serta manajemen reproduksi yang kurang optimal dapat memengaruhi kesehatan dan produktivitasnya, termasuk dalam hal kualitas sperma pada pejantan. Oleh karena itu, pemberian pakan yang bernutrisi tinggi sangat penting untuk mendukung performa produksi dan reproduksi kambing ini (Lu., 2021).

Salah satu strategi dalam meningkatkan performa kambing Saanen adalah dengan pemberian *green concentrate*, yaitu pakan hijauan yang telah difermentasi atau diproses untuk meningkatkan kandungan nutrisinya. *Green concentrate* kaya akan protein, energi, serat, serta mikronutrien esensial yang berperan dalam pertumbuhan, produksi susu, dan kualitas sperma pejantan (Rizky dkk., 2021). Penggunaan pakan berkualitas seperti ini sangat penting untuk memastikan bahwa kambing mendapatkan asupan nutrisi yang cukup, terutama dalam kondisi lingkungan yang kurang optimal atau ketika ketersediaan hijauan terbatas.

Mikronutrien seperti zinc (Zn), selenium (Se), tembaga (Cu), serta vitamin A, D, dan E memiliki peran penting dalam berbagai proses biologis, termasuk sistem reproduksi. Defisiensi mikronutrien ini dapat menyebabkan penurunan produksi sperma, motilitas yang rendah, serta peningkatan abnormalitas sperma yang dapat berdampak pada tingkat keberhasilan reproduksi (Underwood dan Suttle., 2021). Vitamin E, misalnya, dikenal sebagai antioksidan yang melindungi sperma dari stres oksidatif dan memperbaiki integritas membran sel sperma (Surai., 2018).

Dalam evaluasi kualitas sperma, Membran Plasma Utuh (MPU) dan Tudung Akrosom Utuh (TAU) merupakan dua parameter penting yang menentukan viabilitas sperma. Membran plasma sperma berfungsi sebagai pelindung utama sel sperma terhadap faktor lingkungan yang dapat merusaknya, seperti perubahan osmolaritas, suhu, dan zat toksik (Agarwal dkk., 2020). Jika membran plasma mengalami kerusakan, sperma akan kehilangan kemampuannya untuk bergerak dengan baik dan membuahi sel telur. Sementara itu, tudung akrosom adalah struktur yang mengandung enzim-enzim penting yang diperlukan dalam proses penetrasi sel telur. Tudung akrosom yang utuh menandakan bahwa sperma masih dalam kondisi baik dan siap untuk melakukan fertilisasi (Salamon dan Maxwell., 2019). Jika tudung akrosom mengalami kerusakan atau lepas sebelum waktunya, sperma akan kehilangan

kemampuannya untuk membuahi sel telur, yang pada akhirnya menurunkan tingkat keberhasilan pembuahan.

Teknologi semen beku telah banyak digunakan dalam program pemuliaan kambing Saanen untuk meningkatkan efisiensi reproduksi dan distribusi genetik pejantan unggul. Namun, salah satu tantangan utama dalam kriopreservasi (pembekuan sperma) adalah kerusakan sel sperma akibat pembentukan kristal es dan stres oksidatif selama proses pembekuan dan pencairan (Watson., 2020). Pembekuan sperma dapat menyebabkan gangguan pada struktur membran plasma, sehingga mengurangi viabilitas dan motilitas sperma setelah pencairan. Selain itu, tudung akrosom juga rentan mengalami kerusakan akibat perubahan suhu yang ekstrem, yang dapat mengurangi keberhasilan fertilisasi (Memon dkk., 2019). Oleh karena itu, diperlukan strategi untuk meningkatkan ketahanan sperma selama proses kriopreservasi, salah satunya dengan pemberian pakan yang mengandung antioksidan dan mikronutrien esensial seperti yang terdapat dalam *green concentrate* (Martínez dkk., 2021).

Diharapkan pengoptimalan kualitas semen kambing Saanen yang diberi pakan *green concentrate* setelah penampungan hingga uji makroskopis dan mikroskopis setelah proses pembekuan memenuhi Standar kualitas semen beku kambing telah ditetapkan oleh Badan Standardisasi Nasional (BSN), yang tertuang dalam SNI semen beku kambing dan domba ditetapkan minimal motilitas 40% (SNI 4869.3:2014).

1.2. Landasan Teori

1.2.1. Kambing Saennen

Kambing Saanen merupakan kambing perah yang berasal dari lembah Saanen (Swiss). Upaya perbaikan mutu genetik kambing Saanen terutama dalam meningkatkan produktivitas susu ditempuh dengan cara menjaga dan meningkatkan kambing bergenetik unggul dalam produksi susu (Tambing dkk., 2003). (Fitriana dkk., 2021) menyatakan bahwa faktor pakan merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi kualitas semen.

1.2.2. Green Concentrate

Green concentrate merupakan pakan ternak berupa ransum yang disusun dari beberapa bahan yang mengandung nutrisi lengkap. Penggunaan rumput lapang dan limbah pertanian di peternak pada umumnya merupakan salah satu faktor penyebab rendahnya produktivitas ternak kambing disamping faktor fluktuasi ketersediaan pakan (Malik dkk., 2023). Hijauan leguminosa berpotensi untuk dijadikan konsentrat hijauan pakan ternak ruminansia dengan keunggulan kandungan protein kasar (PK) lebih dari 18%, vitamin dan mineral merupakan upaya untuk memperbaiki kualitas pakan. Pemanfaatan bahan lokal bertujuan untuk menyediakan pakan berkualitas, murah, dan tersedia secara berkelanjutan yang dapat mendukung pengembangan ternak ruminansia (Adiputra dkk., 2021).

1.2.3. *Indigofera Zollingeriana*

Indigofera memiliki kandungan protein hingga mencapai 31,31%. Selain itu *indigofera* juga memiliki kandungan kalsium, fosfor, kalium, xanthophyl, dan karotenoid (Sambuaga dkk., 2020). (Sirait dkk., 2012) menyatakan bahwa *indigofera* mempunyai kandungan protein sebesar 24,14% dan energi kasar sebesar 4,038 kcal/kg dan TDN 75%. Kandungan mineral *Indigofera zollingeriana* yaitu Ca 3,08-3,21%, P 0,22-0,35%, Mg 0,45-0,51% dan K 1,3-1,4% (Abdullah dan Suharlina, 2010). Pada penelitian (Hersade., 2012) pemberian ransum yang mengandung 30% *indigofera Sp.* dapat menghasilkan semen domba yang memenuhi standar. Sedangkan pada penelitian (Paalloan., 2013) pemberian ransum *indigofera Sp.* sampai dengan taraf 30% mampu menurunkan angka abnormalitas pada semen kambing.

1.2.4. Pengaruh Mikronutrien

Mikronutrien adalah nutrisi esensial yang diperlukan dalam jumlah kecil tetapi memiliki peran besar dalam berbagai fungsi biologis, termasuk metabolisme, kekebalan tubuh, dan reproduksi (Underwood dan Suttle., 2021). Dalam sistem reproduksi, mikronutrien berperan dalam mendukung spermatogenesis, menjaga struktur dan fungsi sel sperma, serta melindungi sperma dari kerusakan oksidatif.

Kualitas sperma sangat dipengaruhi oleh kesehatan membran plasma dan tudung akrosom, yang berperan dalam viabilitas serta keberhasilan fertilisasi. Membran plasma sperma berfungsi sebagai pelindung utama terhadap lingkungan eksternal dan berperan dalam transportasi ion serta enzim penting bagi motilitas sperma (Agarwal dkk., 2020). Tudung akrosom adalah bagian dari kepala sperma yang mengandung enzim penting untuk penetrasi sel telur. Kerusakan pada kedua struktur ini dapat menyebabkan penurunan fertilitas akibat kegagalan sperma dalam membuahi sel telur (Salamon dan Maxwell., 2019).

Mikronutrien memiliki peran penting dalam menjaga integritas membran plasma dan tudung akrosom sperma kambing. Mineral seperti seng, selenium, tembaga, dan magnesium berperan dalam stabilitas membran, melindungi dari stres oksidatif, serta mendukung proses fertilisasi. Sementara itu, vitamin seperti A, C, D, E, dan B12 memiliki fungsi sebagai antioksidan serta mendukung kesehatan struktur membran sperma. Oleh karena itu, suplementasi mikronutrien dalam pakan, seperti melalui *green concentrate*, dapat meningkatkan kualitas semen dan mendukung keberhasilan program pemuliaan kambing Saanen.

1.2.5. Kualitas Semen Beku

Penyimpanan semen beku memungkinkan penurunan kualitas spermatozoa sehingga berpengaruh pada keberhasilan inseminasi buatan. Semen beku dievaluasi untuk mengetahui kelayakannya untuk digunakan. Faktor penting dalam menentukan kualitas spermatozoa dari seekor pejantan yaitu dimana kemampuan spermatozoa dapat bertahan hidup setelah diencerkan. Semakin tinggi viabilitas spermatozoa maka semakin tinggi peluang untuk terjadinya fertilisasi pada saat kopulasi baik secara alam maupun buatan (Fransiskus dkk., 2021). Abnormalitas spermatozoa merupakan salah

satu faktor penting dalam menentukan kualitas spermatozoa karena apabila persentase abnormalitasnya di atas 20% maka tingkat fertilitasnya rendah sehingga berpengaruh pada tidak terjadinya fertilisasi pada saat kopulasi (Bretzlaff., 1995).

1.3. Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian pakan *green concentrate* dengan penambahan Mikronutrien terhadap Membran Plasma Utuh (MPU) dan Tudung Akrosom Utuh (TAU) semen beku kambing Saanen.

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada Februari – Maret 2025. Pembuatan *green concentrate* dilakukan di Laboratorium Industri Pakan Fakultas Peternakan, penampungan semen dilakukan di *Animal Center* (Kandang Kambing) Fakultas Peternakan, serta evaluasi semen dilakukan di Laboratorium Reproduksi Ternak Unit Processing Semen, Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin, Makassar.

2.2. Materi Penelitian

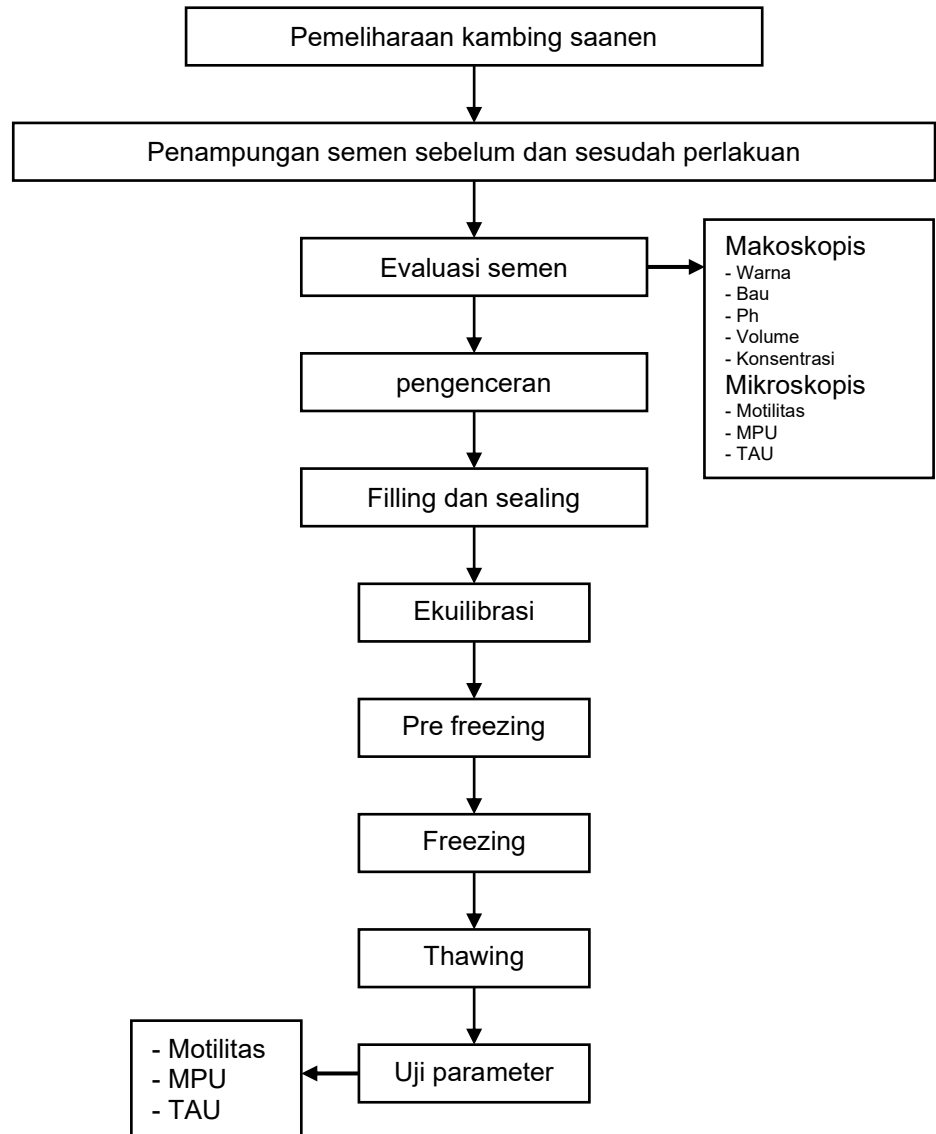
Alat yang digunakan antara lain *hummer milk*, mesin pellet, vagina buatan, tabung skala, tabung reaksi, tabung ukur, gelas ukur, microtube, komputer CASA (*Computer assisted sperm analysis*), photometer SDM 6, kuvet, centrifuge, mikroskop trinokuler, timbangan elektrik, makro dan mikropipet, tip, pinset, pH skala, objek glass, parafilm, bunsen, *cover glass*, straw, countener.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah empat ekor kambing Saanen umur 3 - 4 tahun dengan bobot badan rata-rata 70 - 90 kg, pakan basal seperti rumput gajah dan limbah agroindustri seperti ampas tahu, molases, dedak, NaCl, nitrogen cair, larutan fomasalin, pengencer andromed dan larutan HOST. *Indigofera zollingeriana* bubuk 75 kg. Mikronutrien yang digunakan adalah mikronutrien jenis *Trypi* yang mengandung 3.000 mg *zinc*, penambahan selenium 0,3 mg dan Vitamin E 369 IU.

2.3. Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan empat ekor kambing Saanen Jantan umur 3 - 4 tahun dengan bobot badan 70 - 90 kg. Penelitian berlangsung selama 2 periode perlakuan. Periode I (kontrol) dengan pemberian pakan basah berupa rumput gajah dan limbah agroindustri seperti ampas tahu selama 6 minggu. Kemudian periode II suplementasi mikronutrien dengan pemberian pakan *green concentrate* selama 6 minggu. Penampungan semen, pengamatan sampel dilakukan sebanyak 12 kali selama 2 periode.

2.4. Alur Penelitian

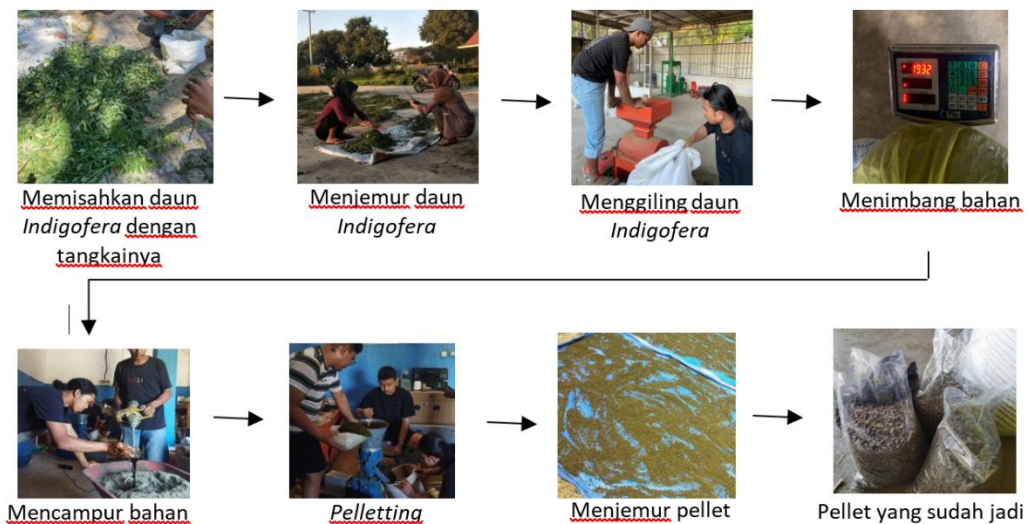


Gambar 1. Alur Pengujian Parameter

2.5. Prosedur Penelitian

2.5.1. Pelletting

Pelleting merupakan proses pengolahan pakan dengan mencetak pakan membentuk silinder menggunakan alat mekanik khusus yang dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain faktor kadar air yang terkandung, panas dan tekanan, pengolahan pakan menjadi pellet diharapkan mengefisiensi pengambilan ransum oleh ternak secara selektif oleh ternak. Proses pengolahan pakan dengan mengeringkan daun *Indigofera Zilengeriana* dibawah sinar matahari samapai kadar air 14%, lalu digiling menggunakan *hammer milk* hingga halus menjadi tepung untuk memperoleh serbuk kering (simplisia). Selanjutnya mencampurkan komposisi bahan dengan komposisi *indigofera* 35%, dedak 30%, jagagung giling 20%, bungkil kedelai 10%, molases 5%, serta mikro mineral berupa zinc 50 gr / 100 kg dari produk trypi® dan kalimun dengan kandungan selenium dan vitamin E 100 gr/100 kg. Kemudian mencampur seluruh bahan yang akan diproses dengan bantuan mesin *pelleting*. Selanjutnya di keringkan sebelum diberikan kepada ternak.



Gambar 2. Alur Pembuatan Pellet

Tabel 1. Hasil uji proksimat pellet *green concentrate* yang ditambahkan mikro mineral

No	Green Concentrate	Komposisi (%)
1	Kadar Air	9,44
2	Protein kasar	16,09
3	Lemak kasar	4,19
4	Serat kasar	13,72
5	BETN	54,60
6	Abu	11,42

Sumber : Laboratorium Kimia Pakan, Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin Makassar, 2024.

2.5.2. Pemberian Pakan

Pakan yang diberikan terdiri dari pakan hijauan (rumput gajah dengan kadar air 85%) dan konsentrat (ampas tahu dengan kadar air 80%). Pada periode I atau periode kontrol, kambing diberi pakan berupa rumput gajah dan ampas tahu. Selanjutnya untuk periode II kambing diberi pakan seperti pada periode kontrol namun ditambahkan dengan pemberian mikronutrien selama 6 Minggu. Mikronutrien diberikan sebanyak 40 g/ekor/hari dengan kandungan nutrisi, vitamin E 369 IU, Selenium 0,3 mg, Zinc 50 mg. Pemberian mikronutrien dicampurkan kedalam konsentrat lalu diberikan kepada ternak. Pemberian pakan Green Concentrate yang telah disuplementasi dengan mikronutrien diberikan pada saat pagi dan sore hari sebanyak 1 kg.

2.5.3. Penampungan Semen

Penampungan semen kambing Saanen dilakukan di *Animal Center* (Kandang Kambing) Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin. Diawali dengan menyiapkan 4 ekor kambing Saanen jantan yang akan ditampung semennya dan 1 ekor kambing betina sebagai pemancing pada kandang jepit. Kemudian menyiapkan vagina buatan dengan cara ujung corong penampung dipasang sebuah tabung pengumpul semen berskala dan memasang pelindung vagina buatan. Air panas dengan suhu 42°C-45°C. Kemudian diberi tekanan udara guna menyesuaikan bentuk vagina asli pada betina. Pada ujung sisi lain vagina buatan diolesi pelumas guna membantu proses kopulasi. Suhu vagina buatan dipertahankan pada waktu penampungan. Setelah vagina buatan disiapkan kemudian semen mulai ditampung saat terjadinya ejakulasi ditandai dengan adanya dorongan yang kuat pada vagina buatan. Setelah semen tertampung dilakukan pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis di Laboratorium Reproduksi Ternak Unit Prosesing Semen. Semen ditampung sebanyak 2 kali dalam 1 minggu.

2.5.4. Pengenceran Semen

Sebagai salah satu pengencer yang tidak mengandung kuning telur, Andromed sangat tepat digunakan karena tidak terkontaminasi oleh mikroorganisme yang berasal dari telur. Sumber lesitin pengencer andromed bersumber dari ekstrak kacang kedelai, yang juga dapat menjalankan fungsi seperti pada lesitin kuning telur. Andromed mengandung protein, karbohidrat (fruktosa, glukosa, manosa, dan maltotriosa), mineral (natrium, kalsium, kalium, magnesium, klorida, fosfor, dan mangan), asam sitrat, gliserol, lemak, lesitin, dan gliserilfosforil kolin (GPC) (Susilawati, 2011).

2.5.5. Filling dan Sealing

Filling dan Sealing merupakan tahapan penting dalam pengemasan semen sebelum dilakukan pembekuan. Setelah semen dievaluasi dan dicampur dengan bahan pengencer (extender) yang mengandung nutrisi dan krioprotektan, semen yang telah diencerkan tersebut dimasukkan ke dalam straw (sedotan plastik khusus) dengan volume tertentu, biasanya 0,25 ml atau 0,5 ml. Proses pengisian ini disebut filling. Tujuan filling adalah untuk memastikan setiap straw berisi dosis sperma yang seragam sesuai standar inseminasi, menjaga konsentrasi spermatozoa tetap stabil, serta menghindari adanya gelembung udara yang dapat merusak kualitas semen saat pembekuan. Proses ini dilakukan secara higienis dan pada suhu terkontrol agar viabilitas sperma tetap terjaga.

2.5.6. Ekuilibrase

Ekuilibrase merupakan proses penurunan suhu sekaligus proses gliserolisasi pada cairan semen agar dapat beradaptasi dengan penambahan larutan pengencer. Pembuatan straw dengan melakukan feeling yaitu semen dimasukan kedalam straw kemudian dilakukan sealing yaitu ujung straw di jepit menggunakan pinset yang telah dipanaskan diatas bunsen.

2.5.7. Pre Freezing

Pre freezing adalah tahap persiapan semen sebelum proses pembekuan. Pada tahap ini, semen yang dikumpulkan dari hewan ternak akan diproses terlebih dahulu, yaitu dicampur dengan pengencer yang mengandung bahan-bahan yang dapat melindungi sperma selama proses pembekuan dan pengenceran kembali. Pengencer ini mengatur pH, keseimbangan osmotik, dan menjaga keberlangsungan hidup sperma. Setelah dicampur dengan pengencer, semen akan melalui proses pendinginan secara bertahap hingga mencapai suhu tertentu, biasanya sekitar 5°C. Proses ini penting untuk mempersiapkan semen agar siap dibekukan dengan mengurangi stres pada sperma dan memperbaiki kemampuan sperma bertahan hidup setelah dibekukan.

2.5.8. Freezing

Freezing semen adalah tahap berikutnya, di mana semen yang sudah dipersiapkan pada tahap pre-freezing kemudian dibekukan secara cepat. Proses pembekuan semen biasanya dilakukan dengan menggunakan nitrogen cair pada suhu sangat rendah (sekitar -196°C). Semen yang dibekukan disimpan dalam tabung kecil atau straw yang telah diberi label dan tanggal untuk memudahkan identifikasi. Proses pembekuan yang cepat ini penting untuk mencegah pembentukan kristal es di dalam sel sperma, yang dapat merusak struktur sel dan mengurangi motilitas serta viabilitas sperma. Setelah semen dibekukan, semen dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama dan digunakan saat dibutuhkan untuk inseminasi buatan.

2.5.9. Thawing

Semen beku dicairkan kembali (thawing) dengan cara memasukkan straw ke dalam thawing device selama 45 detik. Kemudian semen diperiksa kualitasnya melalui pengamatan dengan menggunakan mikroskop.

2.6. Parameter Penelitian

2.6.1. Makroskopis Semen Segar Kambing Saanen

Warna

Warna semen yang baik (normal) berwarna putih susu atau krem keputihan dan keruh, ada pula yang kekuningan karena pengaruh riboflavin yang bersifat autosomal resesif (Dzulqarnain dkk., 2022).

Volume

Semen Volume semen adalah banyaknya semen (ml) yang diejakulasikan oleh seekor ternak. Volume ini dipengaruhi, antara lain oleh umur, besar tubuh, status kesehatan, status reproduksi, kualitas makanan, dan frekuensi penampungan. (Arifiantini., 2012).

Bau

Bau semen kambing yaitu khas semen yang menunjukkan bahwa semen tersebut normal dan tidak terdapat kontaminasi sehingga dapat dilakukan prosesi semen (Aini dkk., 2014).

Derajat Keasaman (pH)

Derajat Keasaman (pH) semen yang berada dalam keadaan stabil yaitu kisaran 5,9–7,3 yang diidentifikasi menggunakan pH *indicator paper* yang dicelupkan ke dalam semen. (Dzulqarnain dkk., 2022).

Konsistensi

Konsistensi atau tingkat kekentalan dievaluasi dengan cara menggoyangkan tabung yang berisi semen perlahan-lahan sehingga terlihat gerakan permukaan semen di dalam tabung. Semakin tinggi tingkat kekentalannya maka kualitas semen tersebut juga semakin baik (Manehat dkk., 2021).

2.6.2. Mikroskopis Semen Beku Kambing saanen

Motilitas

Motilitas adalah daya gerak spermatozoa untuk membuahi sel telur. Pengamatan motilitas spermatozoa diukur dengan cara meneteskan semen segar sebanyak 1µL yang telah diencerkan di atas *object glass* kemudian ditutup dengan *cover glass*. Pengujian motilitas spermatozoa yang dilakukan adalah pengujian secara visual mikroskopik menggunakan mikroskop CASA (Wahyuningsih dkk., 2013).

Membran Plasma Utuh

Membran plasma utuh diuji menggunakan larutan Hypo-osmotic Swelling Test (HOST) dengan perbandingan 1:10 (100 µl sperma yang diberi perlakuan : 1 ml larutan HOST), dilanjutkan dengan Inkubasi selama 30 menit di suhu 37°C. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop trinokuler dengan pembesaran 400× dan minimal 200 sel spermatozoa (Diansyah dkk., 2020). Spermatozoa dengan ekor melingkar menandakan bahwa membran plasmanya utuh, sedangkan spermatozoa yang ekornya lurus menandakan membran plasmanya rusak (Ondho, 2020). Menggunakan rumus :

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

Tudung Akrosom Utuh

Pengamatan Tudung Akrosom Utuh (TAU) dapat dilakukan dengan cara mencampurkan semen yang akan diuji dengan larutan formosaline dengan perbandingan 1 : 4 ke dalam tabung microtube. 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 (Cahaya dkk., 2017). Menggunakan perhitungan yaitu:

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

2.7. Analisis Data

Penelitian ini dilakukan dengan pengamatan pada periode I (kontrol) : pemberian pakan tanpa penambahan *green concentrate* dan periode II : pemberian *green concentrate* yang ditambahkan mikro mineral sebanyak 6 kali ulangan pada setiap perlakuan. Data yang diperoleh dari hasil pengamatan evaluasi kualitas semen beku kambing Saanen dianalisis secara statistik Uji-T dengan bantuan aplikasi Microsoft Exel. Adapun rumus Uji-T sebagai berikut :

$$t_{hit} = \frac{\bar{d}}{Sd/\sqrt{n}} \quad Sd = \sqrt{\frac{\epsilon d^2 - \frac{[(\epsilon d)^2]}{n}}{n-1}}$$

Keterangan

- t_{hit} : Nilai Statistik t-hitung
- Sd : Standar deviasi dari perbedaan antara pengamatan berpasangan
- n : Jumlah pengamatan berpasangan
- d : Perbedaan antara data yang berpasangan
- \bar{d} : Rata-rata selisih /perbedaan