

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 20 Agustus – 7 September 2016 di Kelompok Tani Sido Rukun, Dusun Bengkung, Desa Candiretno, Kecamatan Secang, Kabupaten Magelang.

3.1. Materi

Materi yang digunakan pada penelitian ini yaitu semen hasil dari 4 ekor pejantan entok yang dewasa tubuh, memiliki libido tinggi dan bobot badan berkisar 3 – 4 kg. Bahan yang digunakan yaitu pakan entok, NaCl fisiologis 0,9% dan putih telur itik untuk pengenceran semen. Pelumas (vigel) untuk melumasi vagina buatan, desinfektas untuk sanitasi kandang. Peralatan yang digunakan adalah kandang individu untuk 1 ekor pejantan entok, vagina buatan, *beaker glass*, *object glass*, *deck glass*, *aluminium foil*, batang pengaduk, pipet tetes, pipet ukur, tabung reaksi, *tissue*, gelas ukur, mikroskop, *haemocytometer*, bunsen, pemanas air dan *handtallycounter*.

3.2. Metode

3.2.1. Pemeliharaan dan seleksi pejantan

Pemeliharaan pejantan dilakukan dalam kandang individu yang berukuran 1 x 1 meter persegi. Persiapan pejantan yaitu melatih entok jantan untuk dapat ditampung spermanya menggunakan vagina buatan. setelah pejantan dapat

ditampung, kemudian dilakukan seleksi pejantn. Syarat pejantan entok yang menjadi materi penelitian yaitu mempunyai libido yang tinggi, mudah ditampung dan memilikikualitas semen yang baik. Pemberian pakan dilakukan sehari 2 kali pagi dan sore, pakan yang diberikan adalah campuran dari bahan pakan yang yang disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Campuran Pakan yang Digunakan

Bahan Pakan	Komposisi (%)
Jagung	50
Konsentrat	30
Dedak	15
Tepung Cangkang Keong	1
Tepung Ikan	4
Jumlah	100

3.2.2. Perlakuan

Rancangan yang digunakan yaitu rancangan acak lengkap (RAL), dengan 4 perlakuan dan 4 ulangan. Perlakuannya adalah penampungan 3 dan 6 hari sekali yang diencerkan menggunakan NaCl fisiologis dan campuran NaCl fisiologis dengan 4% putih telur itik. Gambaran perlakuan dan ulangan penelitian disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Gambaran Perlakuan dan Ulangan Penelitian

Ulangan	Perlakuan			
	T1	T2	T3	T4
1	T1U1	T2U1	T3U1	T4U1
2	T1U2	T2U2	T3U2	T4U2
3	T1U3	T2U3	T3U3	T4U3
4	T1U4	T2U4	T3U4	T4U4

Keterangan: T1 = penampungan 3 hari sekali dengan pengenceran NaCl fisiologis; T2 = penampungan 3 hari sekali dengan pengencer campuran NaCl fisiologis dan 4% putih telur itik; T3 = penampungan 6 hari sekali dengan pengenceran NaCl fisiologis dan T4 = penampungan 6 hari sekali dengan pengencer campuran NaCl fisiologis dan 4% putih telur itik.

3.3.3. Pelaksanaan penelitian

Pelaksanaan penelitian diawali dengan penampungan semen dan pengenceran semen. Penampungan semen entok dibagi menjadi dua yaitu :

- 1.) penampungan awal untuk memenuhi perlakuan yang hasil penampungan dibuang atau tidak dipakai.
- 2.) penampungan untuk pengambilan data yaitu dilakukan pada 2 kelompok entok jantan yaitu ditampung 3 hari sekali dan 6 hari sekali. Penampungan dilakukan pagi hari mulai pukul 08.00 WIB. Pejantan mula-mula didekatkan dengan betina entok pemancing. setelah pejantan entok menaiki dan penis sudah mau keluar, kemudian penis dimasukkan kedalam vagina buatan secara perlahan dan pangkal ekor dipencet untuk memudahkan ejakulasi. Semen yang menjadi materi penelitian, setiap penampungan diperiksa kualitas makroskopis dan mikroskopis untuk mengetahui sperma itu memenuhi syarat atau tidak untuk diteliti lebih lanjut. Semen yang memenuhi syarat kemudian diencerkan dengan NaCl fisiologis dan campuran NaCl fisiologis dengan putih telur itik hingga memperoleh 150 juta sperma setiap 0,2 ml.

3.3.4. Pengenceran semen

Semen segar yang telah ditampung dengan vagina buatan dan dievaluasi secara makroskopis dan mikroskopis, kemudian dilakukan pengenceran untuk memperoleh dosis sperma 150 juta per 0,2 ml. Pengenceran dilakukan dengan NaCl fisiologis dan campuran NaCl fisiologis dengan 4% putih telur itik. Perhitungan penambahan bahan pengencer menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Total pengencer} = \frac{\text{volume semen} \times \text{konsentrasi} \times 0,2}{150 \times 10^6} - \text{volume semen} \dots\dots(1)$$

3.3.5. Parameter

- Daya hidup sperma

Pengamatan daya hidup sperma dilakukan dengan melihat motilitas sperma atau sperma yang bergerak progresif ke depan per 10 menit sampai motilitas sperma tinggal 40% dengan penyimpanan semen pada kondisi suhu ruang $37^{\circ}\text{C} - 40^{\circ}\text{C}$. Pemeriksaan motilitas dengan cara meletakkan satu tetes semen yang telah diencerkan pada *object glass* yang kemudian ditutup dengan *deck glass* dan diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 10x40. Penilaian dengan persentase sperma yang bergerak ke depan dengan melihat sebanyak 10 lapang pandang secara cepat, pada setiap preparat sperma. Penilaian motilitas sperma dilakukan oleh 5 orang panelis untuk mengurangi subjektivitas penilaian. Penilaian menggunakan rata-rata dari taksiran persentase sperma yang bergerak progresif ke depan pada 10 lapang pandang yang diamati.

- Abnormalitas primer

Pengamatan abnormalitas primer sperma dilakukan dengan membuat preparat ulas pada setiap sperma hasil penampungan. Pembuatan preparat ulas dilakukan dengan cara meneteskan satu tetes semen yang telah diencerkan pada *object glass*, ditambah satu tetes larutan eosin 2% untuk memperjelas preparat lalu dihomogenkan dan kemudian membuat preparat ulas yang setipis mungkin pada *object glass* yang difiksasi dengan pemanas lampu. Pengamatan preparat ulas dilakukan di bawah mikroskop dengan perbesaran 10x40, abnormal primer yang diamati adalah kepala besar atau kecil, kepala ganda, ekor bercabang dan kepala tanpa ekor. Perhitungan jumlah sperma abnormal primer (X) minimal sebanyak 200 ekor spermatozoa dari jumlah sperma yang dihitung dengan rumus :

$$\text{Abnormal spermatozoa} = \frac{X}{\text{total spermatozoa yang dihitung}} \times 100\% \dots\dots\dots(2)$$

3.3.6 Analisis data

Data yang diperoleh dari penelitian ini akan dilakukan analisis dengan menggunakan analisis t-test dengan ketelitian mencapai $p < 0,01$ menurut Mas (2009) :

- Rumus uji t

$$\text{Untuk } CV \leq 30\% : t \text{ hitung} = \frac{X1 - X2}{Sg \sqrt{\frac{1}{n1} + \frac{1}{n2}}} \dots\dots\dots(3)$$

$$Sg = \frac{\sqrt{n1-1 S1^2 + n2-1 S2^2}}{(n1+n2)-2} \dots\dots\dots(4)$$

$$\text{Untuk } CV \geq 30\% : t \text{ hitung} = \frac{X1 - X2}{\sqrt{\frac{S1^2}{n1} + \frac{S2^2}{n2}}} \dots\dots\dots(5)$$

Keterangan :

CV : Standar Deviasi (Sd)

X : Rata – rata sampel

n : Jumlah sampel

S : Ragam atau Varians