

BAB III

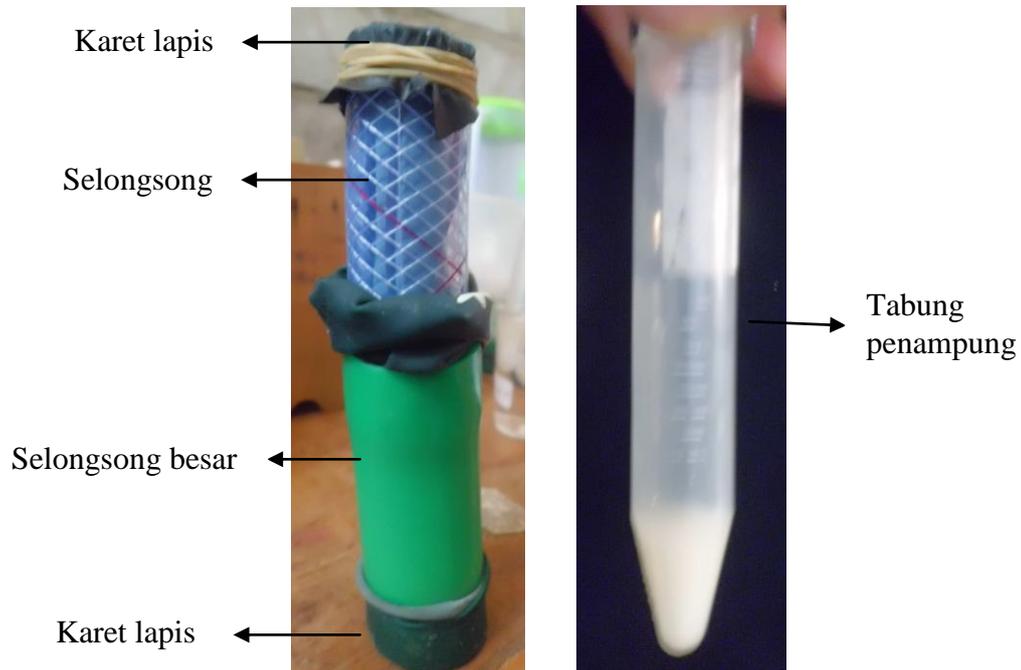
MATERI DAN METODE

Penelitian dengan judul Hubungan Bobot Badan dengan Konsentrasi, Persentase Hidup dan Abnormalitas Spermatozoa Entok (*Cairina moschata*), telah dilaksanakan pada bulan Juli - Desember 2012 di Kandang Entok Desa Leyangan Kecamatan Ungaran, Jawa Tengah.

3.1. Materi

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah semen lima ekor entok yang sudah dewasa kelamin dengan bobot badan rata-rata 2,8 kg. Peralatan yang digunakan adalah kandang, tempat pakan, tempat minum, vagina buatan, tabung berskala, mikroskop cahaya, gelas objek, *cover glass*, pipet hisap, tissue, tabung reaksi, gelas ukur, bunsen, *sput*, *handtally counter*, tisu, *haemocytometer*, pipet eritrosit dan alat tulis.

Kandang yang digunakan adalah kandang baterai yang terbuat dari bambu dengan ukuran panjang 50 cm, lebar 40 cm dan tinggi 1,5 m. Vagina buatan terbuat dari potongan selang air yang dalamnya dilapisi balon mainan lalu ujungnya digabungkan dengan tabung berskala untuk menampung semen yang keluar.



Ilustrasi 2. Vagina Buatan dan Tabung Penampung Semen

Bahan yang digunakan adalah pakan jadi, alkohol 70%, eosin 2% dan NaCl fisiologis 0,9%. Pakan diberikan dua kali sehari, sedangkan air minum diberikan secara *ad libitum*.

3.2. Metode

Penelitian dilaksanakan dalam tiga tahap pelaksanaan yaitu tahap pendahuluan, tahap persiapan, tahap pendahuluan dan tahap penelitian.

3.2.1. Tahap persiapan

Tahap persiapan penelitian meliputi persiapan materi dan bahan penelitian, kandang, perlengkapan pemeliharaan, pakan, serta persiapan peralatan pengambilan data. Persiapan materi dilakukan dengan pembelian 11 ekor entok

jantan yang sudah dewasa kelamin dengan bobot badan rata-rata 2,8 kg. Persiapan kandang dilakukan dengan pembuatan kandang dan perlengkapan kandang. Persiapan pakan dilakukan dengan pembelian pakan jadi.

3.2.2. Tahap pendahuluan

Tahap pendahuluan dilakukan selama satu bulan untuk memberikan entok cukup waktu untuk adaptasi dengan kondisi kandang, pakan dan melatih pejantan untuk diambil semennya dengan cara memijat punggung entok setiap pagi dan sore hari. Materi penelitian yang digunakan adalah entok jantan yang dapat ditampung semennya ($n = 5$ ekor), dari 11 ekor yang disiapkan.

3.2.3. Tahap penelitian

Pada tahap penelitian diawali dengan penimbangan bobot badan entok satu per satu. Kemudian penampungan semen yang selanjutnya akan dilanjutkan dengan pengamatan semen. Penampungan semen dilakukan dengan menggunakan teknik vagina buatan yang dibantu dengan menggunakan betina pemancing atau *teaser*. Jika pejantan sudah terangsang dan menaiki betina tersebut, lubang kloaka ternak betina ditutup dengan bulu-bulu ekornya kemudian penis pejantan dimasukkan dalam vagina buatan.



Ilustrasi 3. Penampungan Semen Dibantu Betina Pemancing (*Teaser*)

3.3. Parameter Penelitian

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah :

1. Konsentrasi sperma, adalah jumlah spermatozoa yang terkandung dalam setiap mililiternya. Pemeriksaan konsentrasi dilakukan dengan menggunakan *haemocytometer*. Prosedur yang dilakukan yaitu sperma dihisap dengan pipet eritrosit sampai skala 0,5 kemudian ditambahkan dengan larutan eosin 0,2% dihisap sampai skala 101 pada pipet, larutan berfungsi untuk pengencer dan juga mematikan spermatozoa. Campuran tersebut kemudian dihomogenkan selama 2 sampai 3 menit dengan membuat angka delapan. Beberapa tetes dibuang dan setetes ditempatkan di bawah *deck glass* yang sebelumnya sudah diletakan di atas kamar hitung *Neubauer*. Konsentrasi spermatozoa pada lima bilik dihitung menurut arah diagonal menggunakan *handtally counter*. Karena setiap kamar terdiri dari 16 ruang kecil, maka didalam 5 kamar terdapat 80 ruangan kecil. Seluruhnya memiliki 400 ruangan kecil, volume setiap ruangan kecil $0,1 \text{ mm}^3$ dan pengencer 200 kali. Apabila didalam 5 kamar atau 80 ruangan kecil terdapat Y spermatozoa, maka konsentrasi spermatozoa dihitung menggunakan rumus:

$$\begin{aligned}
\text{Konsentrasi} &= Y \times 400/80 \times 200/ 0,1/ \text{mm}^3 \dots\dots\dots(1) \\
&= Y \times 5 \times 2000 / \text{mm}^3 \\
&= Y \times 10 \times 10^3 /\text{mm}^3 \\
&= Y \times 10^7 /\text{ml}
\end{aligned}$$

Keterangan :

- Y = Jumlah total spermatozoa dalam 5 kotak besar
400 = Jumlah kotak kecil dalam kamar hitung (25 x 16)
80 = Jumlah kotak kecil dalam 5 kotak besar (5 x 16)
200 = Pengenceran 200 kali
0,1 = Total volume kotak hitung (mm³)

2. Persentase hidup spermatozoa, penghitungan persentase hidup spermatozoa dinyatakan dalam persen yang dilakukan dengan metode pewarnaan. Prosedurnya adalah dengan preparat apus. Langkah pertama gelas objek dibersihkan dengan alkohol supaya bebas dari lemak. Eosin diteteskan pada ujung gelas objek, kemudian ditambahkan dengan sedikit semen dan kemudian diaduk homogen. Preparat ulas dibuat yang tipis, kemudian dipanaskan diatas bunsen. Preparat kemudian diamati di bawah mikroskop pada perbesaran 40x10. Diamati sekurang-kurangnya 200 sperma hidup dan mati, kemudian dihitung persentase sperma yang hidup. Perhitungan persentase hidup spermatozoa adalah sebagai berikut :

$$\text{Persentase hidup} = \frac{\text{sel sperma hidup}}{\text{sel sperma hidup} + \text{sel sperma mati}} \times 100\% \dots\dots\dots(2)$$

3. Persentase abnormalitas sperma, adalah jumlah atau persentase sperma yang abnormal baik itu secara primer ataupun sekunder. Metode pewarnaan dan penilaiannya sama dengan yang dilakukan untuk menghitung persentase

sperma hidup. Kriteria morfologi yang dilihat adalah sperma normal, kepala patah, kepala rusak, kepala berkait, kepala pecah, ekor melingkar, ekor patah dan ekor putus. Perhitungan abnormalitas spermatozoa adalah sebagai berikut:

$$\text{Abnormalitas} = \frac{\text{sel sperma normal}}{\text{sel sperma normal} + \text{sel sperma abnormal}} \times 100\% \dots\dots(3)$$

3.4. Analisis Data

Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel deskriptif kemudian dianalisis dengan menggunakan analisis korelasi regresi sederhana (Steel and Torrie, 1981) antara bobot badan dengan masing-masing parameter untuk mengetahui adanya hubungan dan pengaruh antara bobot badan dengan konsentrasi, persentase hidup dan abnormalitas spermatozoa entok. Data yang diperoleh akan dihitung dengan program SPSS versi 16.0. Jika data yang diperoleh akan dihitung secara manual, maka dapat dirumuskan sebagai berikut:

Nilai korelasi dihitung dengan menggunakan rumus :

$$r = \frac{n\sum XY - \sum X \sum Y}{\sqrt{n\sum X^2 - (\sum X)^2} \sqrt{n\sum Y^2 - (\sum Y)^2}} \dots\dots\dots(4)$$

Nilai r selalu terletak antara -1 dan + 1 ($-1 < r < 1$)

Jika $r = 1$, ini berarti ada korelasi positif sempurna antara X dan Y

$r = -1$ ini berarti ada korelasi negatif sempurna antara X dan Y.

$r = 0$, ini berarti tidak ada korelasi antara X dan Y

Nilai regresi dihitung menggunakan analisis regresi sederhana rumusnya sebagai berikut :

$$Y' = a + bX$$

Dimana :

Y' = adalah nilai prediksi (perkiraan) dari variabel Y berdasarkan nilai variabel X yang dipilih.

a = titik potong Y, merupakan nilai perkiraan Y ketika $X=0$.

b = kemiringan garis atau perubahan rata-rata pada Y' untuk setiap satu unit perubahan (naik atau turun) pada variable bebas X.

X = variabel bebas

Nilai a dan b diperoleh dari rumus :

$$a = \frac{\sum Y}{n} - b \frac{\sum X}{n}$$

$$b = \frac{n(\sum XY) - (\sum X)(\sum Y)}{n(\sum X^2) - (\sum X)^2}$$