

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada 8 Maret 2014 sampai dengan 24 Maret 2014 di Kecamatan Labuhan Maringgai Kabupaten Lampung Timur.

B. Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian yaitu ; kontainer, gunting, pinset, kertas tissue, thermohigrometer, *stopwatch*, ember, mikroskop, gelas obyek, gelas penutup, pemanas buncen, alat hitung.

C. Bahan Penelitian

1. *Straw* semen beku sapi Simmental sebanyak 27 *straw*;
2. Air bersuhu 34°C, 37°C, 40°C;
3. Eosin 2%.

D. Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan pola faktorial 3x3. Faktor I yaitu suhu (34° C, 37° C, dan 40° C) dan faktor II lama *thawing* (10 detik , 15 detik, dan 20 detik) dengan 3 perlakuan dan 3 ulangan.

Tabel 1. Rancangan Penelitian

Lama <i>Thawing</i> (detik)	Suhu <i>Thawing</i>		
	34°C	37°C	40°C
10	3 <i>straw</i>	3 <i>straw</i>	3 <i>straw</i>
15	3 <i>straw</i>	3 <i>straw</i>	3 <i>straw</i>
20	3 <i>straw</i>	3 <i>straw</i>	3 <i>straw</i>

E. Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini yaitu:

1. pengambilan *straw* sapi Simmental di Balai Inseminasi Buatan (BIB) Poncowati, Lampung tengah.
 - a. mengambil *straw* di BIB Pocowati, Lampung Tengah sebanyak 27 *straw*;
 - b. memasukkan ke dalam kontainer;
 - c. membawa *straw* ke Lampung Timur.
2. menyiapkan air dengan suhu 34°C, 37°C, dan 40°C;
3. pemeriksaan motilitas *spermatozoa* (Tolihere, 1993).
 - a. mengambil semen beku dengan kemasan *straw* dari kontainer kemudian *thawing* dengan air yang besuhu 34°C, 37°C, dan 40°C selama 10 detik, 15 detik dan 20 detik (masing-masing 3 *straw*);
 - b. meneteskan semen dari *straw* pada gelas obyek kemudian menutup dengan gelas penutup;
 - c. memeriksa menggunakan mikroskop dengan pembesaran sedang (10x40);
 - d. menentukan persentase motilitas *spermatozoa* sesuai dengan kriteria yang ada.

4. pemeriksaan persentase *spermatozoa* hidup (Mumu, 2009).
 - a. meneteskan satu tetes eosin 2% pada ujung gelas obyek yang bersih;
 - b. meneteskan semen segar dengan ukuran yang sama dengan pewarna pada ujung gelas obyek yang sama;
 - c. menempelkan ujung gelas obyek yang lain atau ujung gelas penutup pada kedua cairan sehingga keduanya bercampur, kemudian didorong ke ujung gelas obyek;
 - d. mengeringkan preparat ulas dengan cara menggerakkan diatas nyala lilin atau pemanas buncen;
 - e. memeriksa *spermatozoa* yang hidup dan mati dengan menggunakan mikroskop pada pembesaran sedang (10x40). *Spermatozoa* yang hidup tidak berwarna, sedangkan *spermatozoa* yang mati akan berwarna merah atau merah muda. Jumlah *spermatozoa* yang dihitung minimal 210 sel;
 - f. menghitung persentase *spermatozoa* hidup.

F. Peubah yang diamati

Peubah yang diamati dalam penelitian ini adalah motilitas dan persentase *spermatozoa* hidup.

1. Motilitas *spermatozoa*

Penilaian semen menurut Toelihere (1981), dapat ditentukan sebagai berikut:

- a. 0 % : *spermatozoa* tidak bergerak;
- b. 0-30 % : gerakan berputar ditempat; bergerak progresif;
- c. 30-50 % : gerakan berayun atau melingkar; bergerak progresif;

- d. 50–80 % : ada gerakan massa; bergerak progresif;
- e. 80–90% : ada gelombang; bergerak progresif;
- f. 90 – 100 % : gelombang sangat cepat; bergerak sangat progresif;

2. Persentase *spermatozoa* hidup

Perhitungan persentase *spermatozoa* hidup menurut Mumu (2009) adalah sebagai berikut:

$$\% \text{ Spermatozoa Hidup} = \frac{\text{sel sperma hidup}}{\text{sel sperma hidup} + \text{sel sperma mati}} \times 100\%$$

G. Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis ragam secara statistik pada taraf nyata 5%

kemudian diuji lanjut dengan menggunakan uji Duncan pada taraf 5%.