

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada 8—27 Maret 2014 di Kecamatan Gisting Kabupaten Tanggamus, Provinsi Lampung. *Straw* semen beku sapi Brahman berasal dari Balai Inseminasi Buatan Daerah (BIBD) Terbanggi Besar, Desa Terbanggi Besar, Kecamatan Terbanggi Besar, Kabupaten Lampung Tengah, Provinsi Lampung.

B. Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain kontainer, gunting, pinset, kertas tisu, pemanas buncen, *thermohygrometer*, *stopwatch* atau alat hitung, ember, mikroskop binokuler, gelas obyek, dan gelas penutup.

C. Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah:

1. *Straw* semen beku sapi Brahman sebanyak 27 *straw*.
2. Air bersuhu 34°C, 37°C, dan 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 yaitu lama *thawing* (10 detik , 15 detik, dan 20 detik) dengan 3 ulangan.

Tabel 1. Rancangan penelitian

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

E. Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini adalah :

1. pengambilan *straw* sapi Brahman di Balai Inseminasi Buatan Daerah (BIBD) Terbanggi Besar, Lampung tengah
 - a. mengambil *straw* di BIBD Terbanggi Besar, Lampung Tengah sebanyak 27 *straw*;
 - b. memasukkan ke dalam kontainer DR 2;
2. menyiapkan air dengan suhu 34°C, 37°C, dan 40°C;
3. pemeriksaan motilitas *spermatozoa*;
 - a. mengambil semen beku dengan kemasan *straw* dari kontainer kemudian di *thawing* dengan air yang bersuhu 34°C, 37 °C, dan 40°C selama 10 detik, 15 detik, dan 20 detik (masing-masing 3 *straw*);

- b. meneteskan semen dari *straw* yang sudah di *thawing* 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 dengan skala persentase pergerakan dari 0 sampai 100. Penilaian Menurut Toelihere (1981), penilaian gerakan individu yang terlihat pada mikroskop adalah sebagai berikut :
 1. 0 % : *spermatozoa* tidak bergerak;
 2. 0—30 % : gerakan berputar ditempat; pergerakan progresif;
 3. 30—50 % : gerakan berayun atau melingkar; pergerakan progresif;
 4. 50—80 % : ada gerakan massa; pergerakan progresif;
 5. 80—90 % : ada gelombang; pergerakan progresif;
 6. 90—100 % : gelombang sangat cepat; pergerakan sangat progresif;
4. pemeriksaan persentase *spermatozoa* hidup;
- a. meneteskan satu atau dua 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 menggunakan 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 dengan rumus menurut Murni (2009):

$$\text{sperma hidup (\%)} = \frac{x-y}{x} \times 100\%$$

keterangan: x = jumlah sel keseluruhan

y = jumlah sel mati

F. Peubah yang Diamati

Peubah yang diamati dalam penelitian ini adalah motilitas dan persentase *spermatozoa* hidup terhadap kualitas semen beku sapi Brahman dengan pengaruh suhu dan lama *thawing* di dataran tinggi Kecamatan Gisting Kabupaten Tanggamus, Provinsi Lampung.

G. Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis ragam secara statistik pada taraf nyata 5% kemudian diuji lanjut dengan menggunakan uji Duncan pada taraf 5%.