

III. MATERI DAN METODE

3.1 Lokasi Dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari 2025 bertempat di Balai Besar Inseminasi Buatan Singosari di Dusun Glantik, Desa Toyomarto, Kecamatan Singosari, Kabupaten Malang, Jawa Timur.

3.2 Materi Penelitian

3.2.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini : vagina buatan, *gloves*, tali keluh, kandang jepit, ember, thermometer, kain hitam, sepatu *boots*, masker, alat tulis, *tube collecting*, *spectrofotometer* SDM 6, *cuvet*, tabung reaksi, mikropipet, vortex, *water bath* suhu 37°C, *autoclave*, *object glass* dan *cover glass*, dan mikroskop *Computer Assisted Semen Analysis (CASA) IVOS II*.

3.2.2 Bahan Penelitian

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah *lubricating jelly*, desinfektan, air panas, semen segar sapi Simmental (*Bos taurus*) yang dikoleksi satu kali dan dua kali dalam seminggu dan NaCl fisiologis 0,9%.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimental dengan pendekatan kuantitatif.

3.3.2 Variabel Penelitian

Variabel-variabel dalam penelitian yang dilakukan ini adalah sebagai berikut:

1. Variabel bebas : frekuensi koleksi semen
2. Variabel terikat : volume, konsentrasi, motilitas, dan abnormalitas semen
3. Variabel kontrol : suhu, kesehatan sapi, dan umur sapi

3.4 Teknik Pengambilan Sampel

Pengambilan data dilakukan secara *purposive sampling*. Data yang digunakan merupakan data semen segar sapi simmental yang dikoleksi satu kali dan dua kali dalam seminggu.

Penentuan jumlah ulangan dengan menggunakan rumus Federer, yaitu :

$$(t-1) (n-1) \geq 15$$

$$(2-1) (n-1) \geq 15$$

$$n-1 \geq 15$$

$$n \geq 16$$

Keterangan :

t = banyaknya perlakuan

n = jumlah ulangan

Jumlah ulangan menurut rumus Federer diatas adalah 16 ulangan.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Koleksi Semen Segar

Tahapan proses koleksi semen segar sapi pejantan Simmental sesuai Standar Operasional Prosedur dan jadwal koleksi semen segar di Balai Besar Inseminasi Buatan Singosari. Menurut Manehat, dkk. 2021 tahapan koleksi semen meliputi :

a) Persiapan Vagina Buatan atau Artificial Vagina (AV)

Langkah awal dalam persiapan vagina buatan dengan memasang selongsong karet tipis (corong) ke dalam tabung luar vagina buatan, selanjutnya ujung selongsong ditarik ke kiri dan ke kanan sebelum dipasang pada tabung luar vagina buatan. Karet gelang digunakan untuk mengencangkan kedua ujung selongsong karet tipis ke tabung luar vagina buatan. Kencangkan karet gelang pada salah satu ujung tabung dan tempelkan corong karet tipis pada ujung tersebut dengan menggunakan karet gelang, tabung berskala dipasang dan diikatkan pada ujung corong karet. Vagina buatan diisi dengan air hangat yang bersuhu antara 45 hingga 60 °C, selanjutnya diisi dengan udara dengan cara ditiup melalui lubang udara yang ada hingga kencang. Lumasi bagian dalam tabung vagina buatan dengan mengoleskan *lubricating jelly* sekitar 3/4 bagian atasnya.

b) Proses Koleksi Semen

Sapi pejantan harus dimandikan terlebih dahulu sebelum ditampung semen untuk menjaga kebersihan dari sapi pejantan. Sapi penggoda atau *teaser* dimasukkan ke dalam kandang penjepit yang berfungsi untuk meningkatkan kualitas dan kuantitas semen yang dihasilkan serta meningkatkan libido pejantan

dengan mendekatkan pejantan ke sapi penggoda atau *teaser* selama kurang lebih 5 sampai 10 menit sebelum ditampung. Saat pejantan pertama melakukan *mounting*, putar penis agar tidak masuk ke dalam vagina. Penampungan semen dilakukan dengan cara mengarahkan Vagina Buatan ke arah penis dan mengeluarkan semen kedalam Vagina Buatan setelah sapi pejantan *mounting* ketiga atau keempat. Langkah selanjutnya adalah evaluasi semen segar untuk dinilai kualitasnya setelah di tampung.

3.5.2 Pemeriksaan Makroskopis dan Mikroskopis

Pemeriksaan makroskopis yaitu volume semen dapat dilihat secara langsung skala pada *tube collecting* semen segar. Pemeriksaan mikroskopis untuk konsentrasi semen menggunakan *spektrofotometer* SDM 6 dihitung dengan menghomogen 0,1 mikro liter (μ l) sampel semen segar dengan 0,3 mikro liter (μ l) NaCL fisiologis 0,9% menggunakan vortex mixer, dimasukkan ke *cuvet* dan ditempatkan di dalam *spektrofotometer* SDM 6. Hasilnya dibacakan dan angka konsentrasi semen ditampilkan pada *spektrofotometer* SDM 6. Pemeriksaan mikroskopis untuk motilitas dan abnormalitas menggunakan mikroskop CASA IVOS II dengan Perbesaran 200 x hingga 400x yaitu sampel semen Segar 0,2 mikro liter (μ l) ditetaskan pada *object glass* lalu ditutup dengan *cover glass* dan dimasukkan kedalam alat CASA IVOS II. Alat ini menganalisis motilitas dan abnormalitas spermatozoa secara otomatis.

3.6 Analisis Data

Analisis data dilakukan menggunakan perhitungan menggunakan *T-test independent* dengan aplikasi IBM SPSS untuk mengetahui ada atau tidaknya

perbedaan antara frekuensi koleksi semen satu kali seminggu dan dua kali seminggu. Jika nilai signifikansi (2 tailed) ≥ 0.05 , maka H_0 diterima artinya tidak ada perbedaan yang signifikan rata-rata dua kelompok sampel yang dibandingkan, sedangkan jika nilai signifikansi (2 tailed) ≤ 0.05 , maka H_1 diterima artinya ada perbedaan yang signifikan rata-rata dua kelompok sampel yang dibandingkan.

3.7 Kerangka Operasional Penelitian

