

PENGGANTIAN *BOVINE SERUM ALBUMIN* PADA CEP-2 DENGAN SERUM DARAH SAPI TERHADAP KUALITAS SEMEN SAPI LIMOUSIN PADA SUHU PENYIMPANAN 3-5°C

Feri Eka Wahyudi¹⁾, Trinil Susilawati²⁾ dan Nurul Isnaini²⁾

¹⁾ Mahasiswa Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya, Malang

²⁾ Dosen Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya, Malang

Email: fery_evo@ymail.com; trinil_susilawati@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penggantian *Bovine Serum Albumin* (BSA) menggunakan serum darah sapi pada pengencer dasar *Cauda Epididymal Plasma 2* (CEP-2) terhadap kualitas semen sapi Limousin selama pendinginan pada suhu 3-5°C. Materi penelitian yang digunakan yaitu semen segar dari sapi Limousin yang dipelihara di Balai Besar Inseminasi Buatan Singosari Malang. Serum darah didapatkan dari darah sapi yang diambil dari Laboratorium Lapang Sumber Sekar Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya. Metode yang digunakan dalam penelitian menggunakan percobaan laboratorium dengan Rancangan Acak Kelompok yang terdiri dari lima perlakuan, yaitu P0 sebagai kontrol (90% CEP-2 (dengan BSA) + 10% KT); P1 (83,84% CEP-2 + 6,16% serum + 10% KT); P2 (81,84% CEP-2 + 8,16% serum + 10% KT); P3 (79,84% CEP-2 + 10,16% serum + 10% KT) dan P4 (90% CEP-2 (tanpa BSA) + 10% KT). Parameter yang diamati adalah motilitas, viabilitas dan abnormalitas. Hasil penelitian, persentase motilitas yang tertinggi yaitu P0 (37,6±17,3%). Persentase viabilitas yang tertinggi yaitu P3 (63,4±3,5). Persentase abnormalitas yang tertinggi yaitu P0 (16,4±4,0%). Total spermatozoa motil pada semua perlakuan lebih besar daripada kriteria Standar Nasional Indonesia (SNI) yaitu 40% spermatozoa motil dari total konsentrasi. Disimpulkan bahwa serum darah belum mampu menggantikan BSA pada CEP-2, namun pada pengencer dengan serum 6,16% cukup mampu mempertahankan motilitas spermatozoa walaupun tidak sebaik pengencer dengan BSA.

Kata kunci : semen cair, penyimpanan dingin, motilitas, viabilitas, abnormalitas

REPLACEMENT OF *BOVINE SERUM ALBUMIN* ON CEP-2 WITH BLOOD SERUM CATTLE TO QUALITY LIMOUSIN COW SEMEN AT 3-5°C TEMPERATURE OF STORAGE

Feri Eka Wahyudi¹⁾, Trinil Susilawati²⁾ and Nurul Isnaini²⁾

¹⁾ Student at Animal Husbandry Faculty, University of Brawijaya

²⁾ Lecturer at Animal Husbandry Faculty, University of Brawijaya

Email: fery_evo@ymail.com; trinil_susilawati@yahoo.com

ABSTRACT

Research was conducted at Reproduction Laboratory, Animal Husbandry Faculty, University of Brawijaya, Malang from December 22nd, 2014 to January 24th, 2015. Purpose of this research was to investigated the influence of BSA replacement with a different concentration level of blood serum in basic diluent of CEP-2 to semen quality during

preservation in 3-5°C. Semen diluent was divided into five groups, there were P0 (90% CEP-2 (with BSA) + 10% Egg Yolk (EY)); P1 (83.84% CEP-2 + 6.16% serum + 10% EY); P2 (81.84% CEP-2 + 8.16% serum + 10% EY); P3 (79.84% CEP-2 + 10.16% serum + 10% EY) and P4 (90% CEP-2 (without BSA) + 10% EY). Data of the research was analyzed using Randomized Block Design, if there was difference between the treatments then tested using Duncan's Multiple Range Test. Result showed that the liquid semen of Limousin after five days chilled preservation, best motility percentage was P0 (37.6±17.3%). Best viability was P3 (63.4±3.5%), best abnormality was P0 (16.4±4,0%). Total motile sperm count was significantly higher in all treatments compared to the standard criteria of SNI 40% motile sperm/ml. Blood serum could not replace the BSA capability yet, although the diluent with 6.16% of blood serum could kept the motility of sperms, but it was not better than BSA.

Keywords: liquid semen, chilled preservation, motility, viability, abnormality

PENDAHULUAN

Semakin meningkatnya kesadaran masyarakat Indonesia akan konsumsi protein hewani, menyebabkan peternak dituntut untuk melakukan produksi secara cepat dan baik untuk memenuhi kebutuhan pasar. Salah satu upaya untuk mengatasi permasalahan dalam meningkatkan produktifitas sapi yaitu dengan memanfaatkan teknologi Inseminasi Buatan (IB) (Alawiyah dan Hartono, 2006). Semen beku yang sering digunakan untuk IB memiliki kualitas yang lebih rendah daripada semen cair dan hanya dapat dipertahankan apabila tersedia Nitrogen cair (N₂ cair) secara kontinyu, sedangkan di beberapa daerah di Indonesia N₂ cair sulit untuk didapatkan dan berdampak pada rendahnya keberhasilan IB. Inseminasi Buatan dengan semen cair perlu dikembangkan lebih lanjut sehingga didapatkan pengencer yang mampu mempertahankan kualitas spermatozoa dengan baik (Devita, Susilawati dan Wahyuningsih, 2014).

Pengencer yang sedang dalam tahap perkembangan adalah pengencer *Cauda Epididymal Plasma 2* (CEP-2) yang memiliki komposisi kimia seperti NaCl, KCL, CaCl₂(H₂O)₆, NaH₂PO₄, KH₂PO₄,

fruktosa, sorbitol, *Bovine Serum Albumin* (BSA), tris, gentamicin dan asam sitrat (Verberckmoes, Van Soom, Dewulf and De Kruif, 2004). *Bovine Serum Albumin* merupakan produk impor dengan harga yang sangat mahal dan sulit didapatkan, walaupun demikian masih ada alternatif yang bisa digunakan sebagai pengganti BSA yaitu serum darah. Oleh karena itu, dilakukan penelitian penggantian BSA dengan berbagai konsentrasi serum darah.

MATERI DAN METODE PENELITIAN

Materi penelitian yang digunakan yaitu semen sapi Limousin dari Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) Singosari Malang, berumur 6-11 tahun yang ditampung setiap seminggu dua kali menggunakan vagina buatan. Selanjutnya dilakukan uji makroskopis yang meliputi volume, warna, bau, konsistensi dan pH, sedangkan uji mikroskopis meliputi motilitas massa, motilitas individu, viabilitas, abnormalitas dan konsentrasi. Darah yang diambil adalah darah yang baru keluar dari tubuh sapi (*fresh*), sehingga dapat segera dilakukan proses koagulasi selama 3 jam pada suhu 3-5°C untuk diambil serumnya. Serum

merupakan cairan bening di atas gumpalan darah. Semen yang digunakan memiliki kriteria motilitas massa ++ dan motilitas individu $\geq 55\%$. Kuning telur yang digunakan adalah kuning telur segar yang berasal dari ayam ras petelur (*layer*) dengan umur telur kurang dari 3 hari.

Penelitian dilakukan dengan 5 perlakuan dan 10 kali ulangan. Pengamatan dilakukan berdasarkan waktu preservasi. Perlakuan semen dibagi menjadi 5, yaitu:

- P0: 90% CEP-2 (dengan BSA) + 10% KT
 P1: 83,84% CEP-2 + 6,16% serum + 10% KT
 P2: 81,84% CEP-2 + 8,16% serum + 10% KT
 P3: 79,84% CEP-2 + 10,16% serum + 10% KT
 P4: 90% CEP-2 (tanpa BSA) + 10% KT

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode percobaan laboratorium. Penelitian bertujuan untuk mengkaji efektivitas berbagai konsentrasi serum sebagai bahan pengganti BSA dalam mempertahankan kualitas spermatozoa yang meliputi motilitas, viabilitas dan abnormalitas selama pendinginan pada suhu 3-5°C.

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan Analisis Ragam dalam Rancangan Acak Kelompok yang dikelompokkan berdasarkan waktu pengamatan semen. Selanjutnya apabila di antara perlakuan menunjukkan perbedaan pengaruh yang nyata atau sangat nyata, dilakukan Uji Jarak Berganda Duncan. Total spermatozoa motil dihitung dengan nilai harapan 40% motil dari total konsentrasi sesuai dengan Standar Nasional Indonesia (SNI).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemeriksaan Semen Segar

Semen segar setelah ditampung dilakukan pemeriksaan kualitas secara makroskopis yang meliputi volume, warna, bau, konsistensi dan pH. Pemeriksaan secara mikroskopis meliputi motilitas massa, motilitas individu, viabilitas, abnormalitas dan konsentrasi. Hasil pemeriksaan semen segar ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Rataan Pemeriksaan Semen Segar Sapi Limousin.

Parameter	Rataan \pm SD	Standar
Kondisi Umum		
Umur (tahun)	8 \pm 2,73	-
BB (kg)	902,4 \pm 11,78	-
Makroskopis		
Volume (ml)	9,84 \pm 0,3	6-15ml
Warna	Putih Susu	Putih susu
pH	6,4 \pm 0,14	6,4-6,8
Konsistensi	Sedang	-
Mikroskopis		
Motilitas Massa	++	++
Motilitas Individu (%)	52 \pm 2,74	$\geq 70\%$
Konsentrasi (juta/ml)	1202,4 \pm 401,67	$\geq 1000 \cdot 10^6$ spermatozoa/ml

Hasil evaluasi volume semen segar dalam penelitian ini berkisar antara 9,5-10,2 ml dengan rata-rata $9,84 \pm 0,3$ ml. Sesuai dengan pendapat Garner and Hafez (2008) yang menyatakan bahwa volume semen sapi bervariasi setiap penampungan antara 1-15 ml atau 5-8 ml per ejakulasi. Semen segar menunjukkan warna putih susu dengan pH $6,4 \pm 0$ dan konsistensi sedang. Warna dan pH semen segar yang diperoleh termasuk dalam kategori normal. pH pada semen sapi berkisar antara 6,2-7,5, pH normal semen sapi yaitu sebesar 6,8 (Toelihere, 1985). Warna normal semen yaitu putih susu atau putih kekuningan karena adanya riboflavin di dalam semen, sedangkan warna abnormal semen kuning kemerahan karena mengandung air, darah atau nanah (Susilawati, 2011). Konsistensi semen segar dalam kategori sedang. Susilawati (2011) menjelaskan bahwa konsistensi berkorelasi dengan konsentrasi spermatozoa. Konsistensi encer mengandung $<1000 \cdot 10^6$ spermatozoa/ml semen, konsistensi sedang mengandung $1000 \cdot 10^6$ - $1500 \cdot 10^6$ spermatozoa/ml semen dan konsistensi pekat mengandung $>1500 \cdot 10^6$ spermatozoa/ml semen.

Hasil pemeriksaan secara mikroskopis menunjukkan motilitas massa ++, sedangkan motilitas individu menunjukkan nilai rata-rata $52 \pm 2,74\%$. Kualitas semen segar yang diperoleh sudah memenuhi SNI untuk IB yaitu motilitas massa minimal ++ (Hafez, 2008). Rata-rata konsentrasi semen segar yang didapat yaitu $1202,4 \pm 401,67 \cdot 10^6$ spermatozoa/ml. Konsentrasi tersebut sudah sesuai dengan standar yaitu berjumlah $\geq 1000 \cdot 10^6$ spermatozoa/ml (Susilawati, 2011). Hasil evaluasi semen segar yang telah diperoleh menunjukkan bahwa kualitas semen segar dapat dipakai untuk penelitian.

Persentase Motilitas Spermatozoa selama Pendinginan 3-5°C

Berdasarkan pengamatan, total rata-rata motilitas tertinggi pada P0 ($37,56 \pm 17,28\%$) disusul dengan P1 ($37,06 \pm 16,68\%$); P2 ($37,00 \pm 17,39\%$); P3 ($36,72 \pm 17,54\%$) dan P4 ($35,72 \pm 17,73\%$). Pengencer menggunakan serum darah yang paling optimal ialah P1 dalam mempertahankan motilitas. Pengencer dengan menggunakan serum darah belum mampu mempertahankan motilitas spermatozoa sebaik pengencer menggunakan BSA.

Pada Tabel 2. menunjukkan perbedaan motilitas yang nyata ($P < 0,05$) terlihat pada hari ke-2 yaitu secara berurutan P4 ($30,5 \pm 6,85\%$); P3 ($33,5 \pm 7,47\%$); P2 ($34 \pm 6,58\%$); P0 ($35,5 \pm 4,38\%$) dan P1 ($36 \pm 5,16\%$). Perbedaan motilitas yang nyata ($P < 0,05$) diakibatkan oleh *cold shock* yang terjadi pada spermatozoa dan proses pengamatan yang kurang teliti.

Penurunan persentase motilitas spermatozoa selama penyimpanan terjadi akibat metabolisme sel masih terus berjalan pada saat disimpan dalam bentuk cair walaupun dengan kecepatan rendah. *Cauda Epididymal Plasma 2* dapat mempertahankan motilitas progresif spermatozoa sampai 40% setelah 6 hari penyimpanan pada suhu 5°C (Verberckmoes *et al.*, 2004). Dalam penelitian ini, penggunaan CEP-2 mampu mempertahankan motilitas spermatozoa sampai pada hari ke-5 dengan persentase motilitas 7,5-8,5%. Sangat rendah apabila dibandingkan dengan hasil penelitian dari Verberckmoes *et al.* (2004). Tabel rata-rata \pm standar deviasi motilitas dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rataan±SD Persentase Motilitas pada Berbagai Perlakuan Pengencer selama Proses Pendinginan (%).

Waktu	Perlakuan				
	P0	P1	P2	P3	P4
Jam ke-0	54,5±2,84	54±2,11	55±3,33	54,5±3,69	54±3,94
Jam ke-1	53±2,58	52,5±2,64	53±2,58	53±3,50	53,5±3,37
Jam ke-2	52,5±2,64	51±3,16	52±2,58	50,5±2,84	51±2,11
Jam ke-3	49,5±2,84	47±4,22	48,5±3,37	50±2,36	48,5±3,37
Hari ke-1	43±4,22	42±4,22	42±3,50	42±5,87	40±4,08
Hari ke-2	35,5±4,38 ^b	36±5,16 ^b	34±6,58 ^a	33,5±7,47 ^a	30,5±6,85 ^a
Hari ke-3	25,5±4,97	27±6,32	25±4,71	24,5±6,43	22±5,37
Hari ke-4	16,5±4,74	15,5±3,69	15,5±4,38	15±4,71	13,5±4,12
Hari ke-5	8±4,22	8,5±2,42	8±3,50	7,5±4,25	8,5±3,37

Keterangan:

superskrip dengan huruf berbeda pada baris yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($P < 0,05$).

Persentase Viabilitas Spermatozoa selama Pendinginan 3-5°C

Pengencer P3 menunjukkan rataan paling tinggi dibandingkan dengan perlakuan lain. Pada pengencer P3 didapatkan persentase viabilitas 72,67±6,60% disusul oleh P2, P1, P4 dan P0 secara berurutan 72,52±7,15%; 72,39±6,93%; 72,35±6,57% dan 72,26±6,90%. Penurunan viabilitas pada berbagai bahan pengencer berlangsung stabil dan relatif sama. Penambahan serum darah pada pengencer mampu mempertahankan viabilitas spermatozoa dengan baik. Hal ini disebabkan kandungan albumin dalam serum darah sebagai sumber nutrisi dan krioprotektan bagi spermatozoa.

Perbedaan viabilitas sangat nyata ($P < 0,01$) terlihat pada hari ke-2 yaitu secara berurutan P1 (70,50±2,88%); P3 (71,38±3,86%); P0 (71,41±3,21%); P2 (73,80±2,80%) dan P4 (74,14±3,62%). Data viabilitas lain tidak terdapat perbedaan yang nyata ($P > 0,05$). Dari hasil penelitian dapat dikatakan penggantian BSA menggunakan serum darah dapat mempertahankan viabilitas spermatozoa dengan baik. Walaupun demikian

perbedaan viabilitas pada setiap perlakuan tidak terlalu tinggi atau dapat dikatakan penurunan persentase viabilitas hampir seragam. Puka (1996) melaporkan bahwa spermatozoa dalam semen cair sapi Brangus dalam pengencer sitrat kuning telur dapat bertahan hidup hingga 11,75 hari sesudah pengenceran, kemudian diikuti susu skim kuning telur selama 9 hari. Pemberian serum darah pada P3 (10,16%) dalam pengencer CEP-2 mampu mempertahankan viabilitas paling baik. Penyebab Viabilitas P0 terendah dan P3 paling baik adalah pada saat pengulasan, pengamatan dilakukan tidak sesegera mungkin dan kesalahan dalam pengulasan yang menyebabkan spermatozoa terputus kepala dan ekornya. Tabel rataan±standar deviasi viabilitas dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rataan±SD Persentase Viabilitas pada Berbagai Perlakuan Pengencer selama Proses Pendinginan (%).

Waktu	Perlakuan				
	P0	P1	P2	P3	P4
Jam ke-0	80,21±2,84	81,75±1,74	82,64±2,31	82,01±1,41	81,79±1,51
Jam ke-1	79,99±1,92	79,89±2,07	79,45±2,13	79,43±3,14	77,83±1,86
Jam ke-2	77,75±2,09	77,08±2,81	76,36±3,15	77,21±3,07	76,68±2,75
Jam ke-3	74,86±2,08	75,45±3,10	75,88±2,82	75,43±3,10	74,44±2,60
Hari ke-1	73,32±2,93	73,28±2,75	71,94±2,67	73,09±1,85	72,67±2,24
Hari ke-2	71,41±3,21 ^a	70,50±2,88 ^a	73,80±2,80 ^b	71,38±3,86 ^a	74,14±3,62 ^b
Hari ke-3	68,43±2,22	68,09±1,45	68,10±1,64	68,38±1,33	67,84±2,75
Hari ke-4	63,09±3,86	62,61±2,68	62,67±3,44	63,64±3,66	62,77±3,82
Hari ke-5	61,29±5,64	62,88±5,07	61,83±4,69	63,44±3,48	62,99±5,10

Keterangan:

superskrip dengan huruf berbeda pada baris yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$).

Persentase Abnormalitas Spermatozoa selama Pendinginan 3-5°C

Dari hasil pengamatan, pengencer P0 memiliki nilai total rata-rata abnormalitas paling tinggi di antara perlakuan lain. Nilai rata-rata abnormalitas pada P0 ($16,35 \pm 3,9\%$) disusul oleh P3, P1, P2 dan terakhir P4 dengan masing-masing nilai rata-rata secara berurutan $16,44 \pm 3,34\%$; $16,60 \pm 4,13\%$; $16,76 \pm 3,1\%$ dan $16,85 \pm 3,19\%$. Semakin lama semen cair disimpan pada suhu dingin maka semakin tinggi nilai abnormalitas spermatozoa pada masing-masing perlakuan. Peningkatan ini terjadi akibat banyaknya sel spermatozoa yang putus antara ekor dan kepala akibat rusaknya sel yang disebabkan oleh kurangnya nutrisi dan pelindung spermatozoa. Selain itu cara pengulasan juga mempengaruhi nilai abnormalitas spermatozoa.

Spermatozoa abnormal meningkat selama proses pendinginan disebabkan oleh *cold shock*, ketidakseimbangan tekanan osmotik akibat dari proses metabolisme yang terus berlangsung selama penyimpanan suhu 3-5°C (Solihati dan Petrus, 2008). Tingginya abnormalitas dipengaruhi oleh beberapa faktor baik dari

prosesing semen, penyimpanan dan kondisi fisiologis dari pengencer tersebut (Susilawati, 2013). Dalam penelitian ini yang paling mampu untuk menjaga abnormalitas adalah pengencer yang menggunakan BSA. Namun pada pengencer yang ditambahkan serum darah cukup mampu menjaga abnormalitas semen, namun tidak sebaik BSA.

Pengencer menggunakan BSA merupakan pengencer yang paling baik dalam mempertahankan abnormalitas spermatozoa, hal ini dapat dilihat dari rendahnya nilai rata-rata abnormalitas. Penggantian BSA menggunakan serum darah 10,16% merupakan perlakuan terbaik kedua dalam mempertahankan abnormalitas spermatozoa, hal berikut menandakan bahwa serum darah dengan konsentrasi 10,16% merupakan yang paling optimal dalam mempertahankan abnormalitas spermatozoa. Perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$) terlihat pada penyimpanan jam ke-1 dan hari ke-5. Pada jam ke-1 secara berurutan P1 ($10,01 \pm 2,63\%$); P0 ($10,94 \pm 1,62\%$); P3 ($11,65 \pm 2,30\%$); P2 ($12,86 \pm 2,32\%$) dan terakhir P4 ($13,32 \pm 1,44\%$). Pada hari ke-5 secara berurutan P3 ($17,77 \pm 2,11\%$); P4

(18,70±2,04%); P2 (19,71±2,12%); P1 (20,18±1,84%) dan terakhir P0 (21,22±3,04%). Perbedaan abnormalitas yang sangat nyata ini dipengaruhi oleh berbagai faktor, diantaranya adalah waktu penghitungan yang terlalu lama antara pengulasan dan pengamatan, selain itu perbedaan pengulasan dan ketidak hati-hatian juga dapat menimbulkan pengaruh yang nyata terhadap abnormalitas spermatozoa. Pengulasan yang salah dapat meningkatkan abnormalitas spermatozoa secara signifikan, hal ini terjadi akibat spermatozoa terputus kepala dan ekor akibat kesalahan pengulasan.

Penyimpanan semen pada hari ke-2 sudah mulai menunjukkan abnormalitas diatas 20%. Abnormalitas diatas 20%

dapat dilihat pada pengencer P0, P1, P3 dan P4 pada hari ke-2 yaitu masing-masing sebesar 20,59±2,25%; 20,62±1,34%; 20,85±2,16% dan 20,28±2,38%. Ax, Dally, Didion, Lenz, Love, Varner, Hafez and Bellin (2008) melaporkan bahwa spermatozoa dengan abnormalitas lebih dari 20% tidak dapat digunakan untuk IB. Menurut pendapat di atas dapat disimpulkan semen hanya mampu digunakan untuk IB sampai hari ke-2 apabila mengacu pada abnormalitas. Walaupun demikian nilai abnormalitas selalu naik turun selama penyimpanan, sehingga abnormalitas bukanlah satu-satunya acuan untuk melakukan IB. Tabel rataan±standar deviasi abnormalitas dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Rataan±SD Persentase Abnormalitas pada Berbagai Perlakuan Pengencer selama Proses Pendinginan (%).

Waktu	Perlakuan				
	P0	P1	P2	P3	P4
Jam ke-0	11,99±3,45	11,34±2,90	13,29±7,98	12,96±3,36	12,67±3,78
Jam ke-1	10,94±1,62 ^a	10,01±2,63 ^a	12,86±2,32 ^b	11,65±2,30 ^a	13,32±1,44 ^b
Jam ke-2	12,67±1,65	14,45±2,53	13,53±2,64	13,30±2,40	12,75±3,65
Jam ke-3	15,24±2,46	15,58±2,60	16,05±2,85	15,93±3,15	16,22±3,66
Hari ke-1	16,01±3,12	16,23±2,41	15,82±2,13	16,25±3,13	18,28±3,06
Hari ke-2	20,59±2,25	20,62±1,34	19,73±2,00	20,85±2,16	20,28±2,38
Hari ke-3	18,90±3,74	20,70±2,90	19,73±3,32	18,53±2,16	19,15±2,94
Hari ke-4	19,58±2,65	20,30±2,92	20,12±3,49	20,74±2,73	20,31±2,19
Hari ke-5	21,22±3,04 ^b	20,18±1,84 ^a	19,71±2,12 ^a	17,77±2,11 ^a	18,70±2,04 ^a

Keterangan:

superskrip dengan huruf berbeda pada baris yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang sangat nyata (P<0,01).

Total Spermatozoa Motil

Peluang terjadinya fertilisasi sangat ditentukan oleh jumlah spermatozoa motil progresif dalam suatu ejakulat. Semen cair dan semen beku yang digunakan harus memiliki total spermatozoa motil yang optimal untuk terjadinya fertilisasi (Salim, 2012). Rataan hasil penghitungan total spermatozoa motil dilakukan pada data yang memiliki nilai motilitas ≥40% pada

penyimpanan paling lama. Dalam penelitian ini data yang memiliki rata-rata motilitas layak IB adalah hari ke-1. Data penghitungan total spermatozoa motil ditampilkan pada Tabel 5.

Tabel 5. Total Spermatozoa Motil pada Pendinginan Hari ke-1.

Perlakuan	Total Spermatozoa Motil (juta/ml)	SD	Konsentrasi (juta/ml)
P0	81,8	26,40	190
P1	80,5	20,18	194
P2	89,85	21,62	216
P3	83,8	17	199
P4	78,4	27,92	193

Total spermatozoa motil berdasarkan Tabel 5. menunjukkan pengencer P0, P1, P2, P3 dan P4 memiliki rata-rata total spermatozoa motil diatas 40% dari rata-rata konsentrasi hingga pada hari ke-1. Sesuai dengan SNI, semen beku sapi yaitu semen yang akan diinseminasikan memiliki konsentrasi spermatozoa 25 juta/straw dengan motilitas individu 40% (BSN, 2005). Susilawati (2013) menyebutkan semen diencerkan dengan konsentrasi 100 juta/ml, kemudian dimasukkan kedalam refrigerator. Dari pendapat diatas diharapkan dalam satu pengenceran terdapat 40 juta spermatozoa motil.

Total spermatozoa motil tertinggi terdapat pada perlakuan P2 (89,85±21,62 juta/ml) kemudian P3 (83,8±17 juta/ml); P0 (81,8±26,40 juta/ml); P1 (80,5±20,18 juta/ml) dan P4 (78,4±27,92 juta/ml). Analisis menggunakan *Pearson's Chi Square* pada hari ke-1 dengan nilai harapan 40 juta spermatozoa motil menunjukkan perbedaan yang nyata, rata-rata *Chi Square* > *Chi Square* tabel 0,05. Penggunaan berbagai konsentrasi serum selama pendinginan sampai hari ke-1 dapat diaplikasikan untuk IB karena menunjukkan hasil yang lebih tinggi dari standar yang ditetapkan oleh SNI yaitu 40% spermatozoa motil dari total konsentrasi.

KESIMPULAN

Dari hasil dan pembahasan dapat diambil kesimpulan bahwa:

1. Pengencer CEP-2 dengan BSA merupakan yang terbaik dalam mempertahankan motilitas, namun pengencer CEP-2 dengan serum darah cukup mampu mempertahankan motilitas spermatozoa, yaitu yang terbaik pada pengencer dengan penambahan serum 6,16% (37,06±16,68%).
2. Pengencer CEP-2 dengan serum darah merupakan yang terbaik dalam mempertahankan viabilitas, yaitu pengencer dengan penambahan serum 10,16% (72,67±6,60%). Pengencer CEP-2 dengan BSA merupakan pengencer yang paling rendah dalam mempertahankan viabilitas.
3. Pengencer CEP-2 dengan BSA merupakan yang terbaik dalam menjaga abnormalitas. Pengencer CEP-2 dengan serum darah cukup mampu menjaga abnormalitas, yaitu yang terbaik pada pengencer dengan penambahan serum 10,16% (16,44±3,34%).

SARAN

Dari permasalahan pada pembahasan dapat disarankan:

1. Sebaiknya pengenceran semen cair menggunakan CEP-2 dengan penggantian BSA menggunakan serum

darah, secara optimal serum diberikan sebanyak 6,16%.

2. Perlu diadakan penelitian lebih lanjut menggunakan serum darah dengan konsentrasi dibawah 6,16%. Mengingat dalam penggunaan serum darah, motilitas paling baik didapatkan pada serum dengan konsentrasi paling rendah, yaitu 6,16%.

DAFTAR PUSTAKA

- Alawiyah, D. dan M. Hartono. 2006. Pengaruh Penambahan Vitamin E dalam Bahan Pengencer Sitrat Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Beku Kambing Boer. **J. Indo. Trop. Anim. Agric.** 31(1): 8-14.
- Ax, R., M. Dally, B. Didion, R. Lenz, C. Love, D. Varner, E.S.E. Hafez and M. Bellin. 2008. **Semen Evaluation in Reproduction in Farm Animal.** 7th Edition. Edited By Hafez, E.S.E. Co. Director. Reproductive Health Kiawah Island. USA: 365-370.
- BSN. 2005. **Semen Beku Sapi.** Badan Standarisasi Nasional. SNI 01-4869.1-2005. BSN. Jakarta.
- Devita, V.B, T. Susilawati, S. Wahyuningsih. 2014. Kualitas Semen Sapi Limousin pada Pengencer Yang Berbeda selama Pendinginan. **J. Ternak Tropika.** Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya. Malang.
- Garner, D.L. and E.S.E Hafez. 2008. **Spermatozoa and Seminal Plasma in Reproduction in Farm Animals.** 7th Edition Lippincott Williams and Wikins. Philadelphia. USA: 96-110.
- Hafez, E.S.E. 2008. **Preservation and Cryopreservation of Gamet and Embryos in Reproduction Farm Animal.** E.S.E. Hafez and B. Hafez (eds.) 7th Ed. Lippincott Williams & Wilkins. Marryland. USA: 82-95.
- Puka, V. 1996. Pengaruh Beberapa Bahan Pengencer Terhadap Kualitas Semen Cair Sapi Brangus. **J. Repository.** Fakultas Peternakan Undana. Kupang.
- Solihati, N. dan K. Petrus. 2005. Pengaruh Jenis Pengencer Terhadap Motilitas dan Daya Tahan Hidup Spermatozoa Semen Cair Sapi Simmental. **J. Repository.** Fakultas Peternakan Universitas Padjajaran. Bandung.
- Susilawati, T. 2011. **Spermatologi.** Universitas Brawijaya (UB) Press. Malang.
- _____. 2013. **Pedoman Inseminasi Buatan pada Ternak.** Universitas Brawijaya (UB) Press. Malang.
- Toelihere, M.R. 1985. **Inseminasi Buatan pada Ternak.** Penerbit Angkasa. Bandung.
- Verberckmoes, S., A. Van Soom, J. Dewulf, I. De Pauw and A. De Kruif. 2004. Storage of Fresh Bovine Semen in Diluent Based on the Ionic Composition *Cauda Epididymal Plasma.* **J. Reprod. Dom. Anim.** 39(6): 1-7.