

KUALITAS SEMEN SAPI FRIESIAN HOLSTEIN SELAMA PENDINGINAN MENGGUNAKAN PENGECER CEP₂ DENGAN PENAMBAHAN BERBAGAI KONSENTRASI KUNING TELUR

Ani Atul Arif¹⁾, Trinil Susilawati²⁾, Sri Wahyuningsih²⁾

1) Mahasiswa Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya, Malang

2) Dosen Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya, Malang

Email : ania63598@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan berbagai konsentrasi kuning telur pada pengencer CEP₂ terhadap kualitas semen sapi Friesian Holstein selama pendinginan pada suhu 4-5 °C. Materi penelitian yang digunakan adalah semen dari Sapi Friesian yang dipelihara di Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) Singosari yang dilakukan pengambilan semen secara rutin dengan frekuensi 1 kali / minggu menggunakan metode Vagina Buatan. Kuning telur yang digunakan adalah kuning telur umur kurang dari 3 hari yang berasal dari ayam ras petelur (*layer*). Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen laboratorium dengan jenis Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 3 perlakuan yaitu P1 (CEP₂ + 10% kuning telur), P2 (CEP₂ + 20% kuning telur) dan P3 (CEP₂ + 25% kuning telur) masing-masing 10 kali ulangan. Variabel yang diamati meliputi persentase motilitas, persentase viabilitas dan persentase abnormalitas spermatozoa selama pendinginan. Hasil penelitian menunjukkan persentase motilitas spermatozoa setelah pendinginan tidak memberikan pengaruh yang nyata ($p > 0,05$), hingga 3 jam menunjukkan hasil di atas standar motilitas SNI untuk dapat digunakan dalam Inseminasi Buatan (IB) yaitu P1 sebesar 46.5 ± 3.37 %; P2 sebesar 45.5 ± 1.58 % dan P3 sebesar 44.5 ± 3.69 %, persentase viabilitas masing-masing 86.61 ± 5.75 %; 85.92 ± 4.20 %; 85.98 ± 4.37 dan persentase abnormalitas masing-masing 6.69 ± 0.62 %; 6.24 ± 1.48 %; 7.16 ± 1.03 %. Kualitas spermatozoa sapi Friesian Holstein dalam pengencer CEP₂ (*Cauda Epididymal Plasma*) dengan penambahan 10 %, 20 %, dan 25 % kuning telur mampu bertahan sampai 3 jam dan total spermatozoa motil yang cenderung baik adalah pengencer CEP₂ + 10 % kuning telur.

Kata Kunci : Semen, Pengencer, Kuning Telur, Motilitas, Viabilitas, Abnormalitas

SEMEN QUALITY OF FRIESIAN HOLSTEIN DURING CHILLED PRESERVATION IN CEP₂ AND VARIOUS LEVELS OF EGG YOLK

Ani Atul Arif⁽¹⁾, Trinil Susilawati⁽²⁾, and Sri Wahjuningsih⁽²⁾

¹⁾ Student of Animal Husbandry Brawijaya University

²⁾ Lecturer of Animal Husbandry Brawijaya University

Email : ania63598@gmail.com

ABSTRACT

This study aims to know the effect of egg k on the quality of liquid semen of Friesian Holstein. This research was carried out at Laboratory of Animal Reproduction University of Brawijaya Malang, on 17th Sept until 18th Nov 2014. Research was to find the effect of liquid semen of Friesian Holstein during chilled preservation. Semen divided into three treatment (P1=CEP₂+10% egg yolk, P2=CEP₂+20% egg yolk, P3=CEP₂+25% egg yolk). Used experimental laboratory used method Randomized Block Design. The result show that motility, viability and abnormality in all treatment no significant different ($p > 0,05$) and used to compare total motile sperm count with expected value 40 million cells/ml showed superior is CEP₂ + 10 % egg yolk. The suggestion is used extender of CEP₂ with added 10 % egg yolk to maintain sperm quality.

Key Words : semen, extender, egg yolk, motility, viability, abnormality

PENDAHULUAN

Salah satu usaha meningkatkan produksi susu adalah dengan meningkatkan mutu genetik sapi perah melalui program Inseminasi Buatan (IB). IB merupakan program yang telah dikenal oleh peternak sebagai teknologi reproduksi ternak yang efektif dan telah berhasil meningkatkan mutu genetik ternak (Susilawati, 2011^a). Keberhasilan IB salah satunya memerlukan semen yang berkualitas baik dengan daya hidup semen yang tinggi, sehingga memerlukan proses pengenceran semen yang efektif dan efisien (Susilawati, 2013).

Saat ini di New Zealand IB menggunakan semen cair sebanyak 80 % dan diikuti dengan negara-negara lain, hal ini disebabkan banyaknya spermatozoa yang rusak akibat dari pembekuan. Semen mudah mengalami kerusakan selama proses pembekuan karena terjadinya pembentukan kristal-kristal es (Tambing, Toelihere, Yusuf, dan Utama., 2000) dan perubahan konsentrasi elektrolit (Rizal, 2006) yang dapat menyebabkan terjadinya kerusakan dan kematian pada sel spermatozoa. Proses pembekuan spermatozoa dengan menurunkan suhu hingga mencapai $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ di dalam nitrogen cair menyebabkan sekitar 30% spermatozoa akan mati (Triwulanningsih, Situmorang, Sugiarti, Sianturi, dan Kusumaningrum, 2003). Selanjutnya menurut Ismaya (2014) bahwa saat proses pembekuan dapat terjadi kematian spermatozoa mencapai 20-80% atau rata-rata 50 %. Selain itu biaya semen beku mahal dan jika kesehatan pejantan tidak dipertahankan, semen beku mempunyai potensi tinggi untuk menyebarkan penyakit- penyakit viral dan bakterial.

Penggunaan semen cair yang disimpan pada suhu dingin merupakan salah satu alternatif dalam program IB sebagai pengganti semen beku akibat kualitasnya yang rendah dan faktor penghambat lain seperti ketersediaan nitrogen cair dan tabung nitrogen cair yang cukup mahal di daerah (Triwulanningsih dkk., 2003). Upaya yang

dapat dilakukan untuk mempertahankan kualitas semen pasca pendinginan adalah penyediaan pengencer semen yang dapat menjamin kebutuhan fisik dan kimia bagi spermatozoa, sehingga spermatozoa dapat mempertahankan kelangsungan hidupnya selama proses kriopreservasi. Prinsip dasar pengencer semen adalah harus mengandung unsur - unsur yang hampir sama sifat fisik dan kimia plasma semen, tidak mengandung zat-zat toksik yang dapat meracuni spermatozoa, dan tidak membatasi kemampuan fertilisasi spermatozoa (Verberckmoes, Van Soom, Dewulf, De Pauw, and de Kruif, 2004). Bahan pengencer spermatozoa berfungsi untuk memperbanyak volume, melindungi spermatozoa terhadap *chold shock*, sumber nutrisi mencegah pertumbuhan kuman serta mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit (Ismaya, 2014).

Salah satu bahan pengencer yang dapat digunakan pada suhu rendah yaitu pengencer *Cauda Epididymal Plasma* (CEP₂) yang telah dikembangkan oleh Verberckmoes *et al* (2004) yang komposisinya mirip dengan cairan kauda epididimis plasma. Penggunaan CEP₂ dan 20 % kuning telur mampu mempertahankan kualitas semen sapi Limousin hingga hari ke 8 (Ducha, Susilawati, Aulanni'am, dan Wahyuningsih., 2013).

Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan penelitian terhadap kualitas spermatozoa sapi perah yakni sapi Friesian Holstein menggunakan pengencer CEP₂ dengan penambahan berbagai konsentrasi kuning telur, sehingga dapat diketahui konsentrasi optimum kuning telur sebagai tambahan pengencer CEP₂ dalam menjaga kualitas spermatozoa saat proses pendinginan pada suhu $4-5\text{ }^{\circ}\text{C}$.

MATERI DAN METODE

Preparasi Pengencer

Bahan kimia pengencer CEP₂ terdiri dari NaCl 15 mmol/l; KCl 7 mmol/l; CaCl₂(H₂O)₂ 3 mmol/l; MgCl₂(H₂O)₆ 4 mmol/l; NaHCO₃ 11,9 mmol/l; NaH₂PO₄ 8 mmol/l;

KH₂PO₄ 20 mmol/l; Fruktosa 55 mmol/l; Sorbitol 1 g/l; BSA (SIGMA) 2 g/l; TRIS (MERCK) 133,7 mmol/l; Gentamicin 0,05 g/l; Asam Sitrat 42,9 mmol/l. Bahan - bahan dicampur hingga menghasilkan osmolaritas 320 mOsm dan pH 6,6 (Verberckmoes, 2004). Pengencer CEP₂ ditambahkan kuning telur segar (umur < 3 hari) dengan konsentrasi 10%, 20 % dan 25 % kuning telur.

Koleksi dan Preparasi Semen

Semen segar dikoleksi dari sapi yang terseleksi untuk inseminasi buatan dari Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) Singosari Malang dengan frekuensi 1 kali / minggu menggunakan vagina buatan, dan selanjutnya diuji kualitasnya meliputi pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis. Semen segar yang digunakan adalah semen yang memiliki persyaratan motilitas individu $\geq 50\%$, motilitas massa minimal 2+, abnormalitas $\leq 20\%$ dan viabilitas $\geq 70\%$.

Pengamatan Motilitas Spermatozoa

Semen diambil satu tetes menggunakan ose, diletakkan pada *object glass* dan ditutup dengan *cover glass*. Gerak individu spermatozoa diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali, kemudian dilakukan pengamatan spermatozoa yang bergerak secara progresif (Susilawati, 2011^a). Penilaian motilitas individu ini dilihat berapa spermatozoa yang bergerak progresif kedepan (pergerakan mundur dan melingkar tidak ikut disertakan) dibandingkan dengan spermatozoa yang diam di tempat. Penilaian motilitas individu ini dalam bentuk prosentase spermatozoa yang bergerak (Toelihere, 1993; Garner dan Hafez, 2008; Bayemi *et al*, 2010; Susilawati, 2013; Ismaya, 2014)

Pengamatan Viabilitas Spermatozoa

Penentuan viabilitas dengan membuat ulasan eosin-negrosin, kemudian dihitung dalam bentuk persentase antara spermatozoa yang hidup dan mati. Cara membuat ulasan yaitu dengan cara, semen diletakkan pada

ujung *object glass* dengan menggunakan ose kemudian diberi eosin-negrosin disampingnya. Semen dan eosin negrosin tersebut diaduk menggunakan ose dan diulas dengan menggunakan *object glass* membentuk sudut 45⁰ dan ditarik ke arah ujung lain sehingga akan menghasilkan preparat ulas yang merata pada seluruh permukaan kaca *object glass*. Preparat tersebut dikeringkan dan diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x. Cara menghitung persentase viabilitas spermatozoa yaitu dengan menghitung spermatozoa yang hidup (spermatozoa yang tidak berwarna) dan menghitung spermatozoa yang mati (spermatozoa yang berwarna merah) kemudian bisa dihitung persentasenya (Toelihere, 1993; Bansal and Bilaspuri, 2008; Susilawati, 2011^a; Ducha, dkk., 2013).

Pengamatan Abnormalitas Spermatozoa

Perhitungan abnormalitas spermatozoa dilakukan terhadap preparat ulas dan dilakukan pengamatan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Spermatozoa abnormal bisa dilihat dari bentuk morfologi spermatozoa itu sendiri, bentuk-bentuk spermatozoa abnormal diantaranya adalah kepala yang terlalu besar, kepala dua dalam 1 ekor spermatozoa, ekornya putus, ekor bercabang, ekornya melingkar dan sebagainya. Perhitungan persentase abnormalitas dapat dihitung dengan cara menghitung jumlah spermatozoa abnormal dibagi jumlah spermatozoa yang diamati dan bisa dilihat persentasenya dengan cara dikalikan 100 % (Toelihere, 1993; Herdiawan, 2004; Susilawati, 2013).

Analisis Data

Data yang diperoleh akan dianalisis dengan menggunakan Analisis Ragam dalam Rancangan Acak Kelompok (*Randomized Block Design*) dengan 10 kali ulangan dengan 3 perlakuan yang dikelompokkan berdasarkan waktu penampungan semen. Model matematis untuk RAK adalah:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$$

- Y_{ij} = Pengamatan pada perlakuan ke i ulangan ke j
 μ = Nilai tengah umum
 T_i = Pengaruh perlakuan ke i
 β_j = Pengaruh kelompok ke j
 ϵ_{ij} = Galat percobaan pada perlakuan ke i kelompok ke j

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemeriksaan Semen Segar

Kualitas semen segar yang baik merupakan dasar utama sebagai acuan untuk dilakukan proses perlakuan selanjutnya. Semen segar yang diperoleh dari BBIB Singosari dilakukan pemeriksaan sebelum dilakukan pengenceran dan disimpan dalam suhu 4-5 °C yang meliputi pemeriksaan makroskopis meliputi volume, warna, konsistensi, dan pH, sedangkan pemeriksaan secara mikroskopis meliputi motilitas massa, motilitas individu (%), konsentrasi, viabilitas (%), abnormalitas (%). Rataan kualitas semen segar sapi Friesian Holstein yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rataan Semen Segar Sapi Friesian Holstein

Parameter	Rataan \pm Sd
Makroskopis	
Volume per ejakulat (ml)	6.96 \pm 0.90
Warna	Putih Susu
pH	6.44 \pm 0.17
Konsistensi	Sedang
Mikroskopis	
Motilitas Massa	++
Motilitas Individu (%)	57 \pm 4.47
Viabilitas (%)	87.77 \pm 0,94
Abnormalitas (%)	3.36 \pm 0,64
Konsentrasi (Juta/ml)	1082 \pm 81.36

Rataan volume semen yang dihasilkan dalam penelitian ini adalah 6.96 \pm 0.90 ml dengan kisaran 6 – 8.2 ml. Volume semen yang digunakan termasuk dalam kisaran

normal. Garner dan Hafez (2008) menyebutkan bahwa volume semen sapi perah per ejakulasi sebesar 5-8 ml. Warna semen yang digunakan dalam penelitian adalah putih susu. Semen sapi umumnya mempunyai warna putih susu atau bervariasi sampai warna krem (Partodihardjo, 1992). Susilawati (2011^a) menyatakan bahwa warna krem pada semen disebabkan oleh adanya ribloflavin dari sekresi kelenjar vesikularis. Lopes (2002) juga menyatakan bahwa kualitas semen dinyatakan baik apabila memiliki warna kekuningan sampai dengan putih susu. Rataan pH semen yang digunakan dalam penelitian ini adalah 6.44 \pm 0.17. Semen yang memiliki pH tersebut termasuk dalam kisaran normal. Karakteristik semen Sapi FH yaitu volume antara 5-8 ml, konsentrasi 500-2000 juta/ml, pH sekitar 6,4-6,8, motilitas 40-47% dengan normalitas 65-95% (Garner dan Hafez, 2008). Ismaya (2014) menyatakan bahwa keasaman semen dapat diketahui dengan menggunakan pH meter atau dengan kertas lakmus. Pada sapi mempunyai pH 6,2 sampai 7,8.

Penilaian terhadap motilitas atau daya gerak spermatozoa dibedakan menjadi motilitas massa dan motilitas individu. Motilitas massa yang didapat adalah ++, sedangkan rata-rata motilitas individu adalah 57 \pm 4.47% dengan kisaran 55-60%. Persentase motilitas spermatozoa di bawah 40% menunjukkan nilai semen yang kurang baik dan berhubungan dengan infertilitas karena kebanyakan pejantan fertil mempunyai 50-80% spermatozoa yang motil aktif progresif (Toelihere, 1993). Belum ada pustaka yang mendukung mengenai standar motilitas semen segar untuk semen cair, namun Susilawati (2000) menyatakan semen yang mempunyai persentase motilitas di atas 70% lebih tahan hidup dibandingkan bila lebih rendah dari 70%. Rataan konsentrasi semen segar 1082 \pm 81.36 juta/ml sudah sesuai dengan standar yaitu di atas 1000 juta/ml (Susilawati, 2000).

Rataan viabilitas spermatozoa adalah 87.77 \pm 0.94 %, viabilitas semen tersebut termasuk kategori baik karena viabilitas di atas 70% dan masih dianggap baik jika memiliki

kisaran nilai antara 50-69% (Lopes, 2002). Rata – rata nilai abnormalitas 3.36 ± 0.64 % masih tergolong baik dan memenuhi kriteria semen yang baik. Tambing, dkk (2000) menyatakan persentase abnormal tidak boleh lebih dari 15%, sedangkan Garner dan Hafez (2008) menyatakan bahwa abnormalitas spermatozoa tidak boleh melebihi 20%. Hasil evaluasi semen segar yang telah diperoleh menunjukkan bahwa kualitas semen segar dapat dipakai sebagai bahan penelitian semen cair.

Persentase Motilitas Spermatozoa

Motilitas atau daya gerak spermatozoa merupakan tolak ukur yang digunakan sebagai penilaian kesanggupan spermatozoa untuk membuahi sel telur. Hasil motilitas individu pada semen segar rata rata $57 \pm 4.47\%$ dan setelah mendapat perlakuan pendinginan diperoleh hasil rata-rata yang baik pada semua perlakuan. Rataan persentase motilitas pada berbagai perlakuan pengencer selama pendinginan yang diamati pada jam ke 1, 2,3, hari ke 1 sampai hari ke 6 ditampilkan pada Tabel 2.

Perlakuan P1 (CEP₂ + 10% Kuning Telur), P2 (CEP₂ + 20% Kuning Telur), dan P3 (CEP₂ + 25% Kuning Telur) selama proses pendinginan tidak memberikan pengaruh yang nyata ($p > 0,05$). Hingga jam ke 3 menunjukkan hasil di atas standar motilitas SNI untuk dapat digunakan dalam Inseminasi Buatan (IB) yaitu P1 sebesar $46.5 \pm 3.37\%$; P2 sebesar $45.5 \pm 1.58\%$ dan P3 sebesar $44.5 \pm 3.69\%$.

Persentase motilitas spermatozoa untuk IB menurut SNI adalah ≥ 40 %, sehingga pada penelitian ini semua perlakuan dapat digunakan untuk IB yaitu diatas 40 % selama 3 jam, akan tetapi berdasarkan penelitian Susilawati (2011^b) bahwa kualitas PTM (*Post Thawing Motility*) 20-30%, 30-40%, dan $\geq 40\%$ menghasilkan persentase kebuntingan berturut-turut 85%, 85% dan 95%. Pengencer P1 ($22.5 \pm 1.67\%$), P2 ($26.25 \pm 2.43\%$), P3 ($30.25 \pm 1.84\%$), P4 ($34 \pm 2.42\%$) dan P0 ($43.25 \pm 1.69\%$) yang didinginkan selama 24 jam masih dapat

digunakan untuk IB. Apabila berdasar pada penelitian tersebut, maka semen dapat disimpan hingga hari ke 3 pada perlakuan P2 dan P3, sedangkan pada perlakuan P1 dapat disimpan hanya sampai hari ke 2. Berdasarkan Tabel 2 menunjukkan P1, P2, dan P3 tidak memberikan pengaruh yang nyata ($p > 0,05$). Penelitian dengan menggunakan pengencer CEP₂ dengan penambahan 10 %, 20 %, 25 % kuning telur mampu mempertahankan persentase motilitas spermatozoa hingga hari ke 6, namun penyimpanan pada hari ke 4 sampai hari ke 6 sudah tidak bisa digunakan untuk IB, hal ini dikarenakan motilitas spermatozoa kurang dari 20 %. Berbeda sekali dengan penelitian yang dilakukan oleh Ducha dkk, (2013) penambahan kuning telur pada pengencer CEP₂ berpengaruh terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa Limousin selama penyimpanan pada suhu 4-5°C. Konsentrasi kuning telur terbaik adalah 20% dalam mempertahankan motilitas ($44,25 \pm 3,92\%$) dan viabilitas ($87,46 \pm 5,40\%$) spermatozoa sapi Limousin setelah penyimpanan pada hari ke-8 pada suhu 4-5 °C. pada penelitian ini motilitas semen awal sebelum dilakukan pengenceran adalah $\geq 50\%$, sedangkan motilitas semen awal yang dilakukan oleh Ducha dkk (2013) adalah $\geq 70\%$.

Persentase Viabilitas Spermatozoa

Viability atau spermatozoa hidup merupakan syarat mutlak bagi spermatozoa dalam melakukan fertilisasi didalam sel telur. Rataan persentase viabilitas pada berbagai perlakuan pengencer pada spermatozoa sapi Friesian Holstein selama pendinginan yang diamati pada jam ke 1, 2,3, hari ke 1 sampai hari ke 6 ditampilkan pada Tabel 3.

Viabilitas spermatozoa tergantung pada keutuhan membran spermatozoa. Kerusakan membran spermatozoa akan menyebabkan terganggunya proses metabolisme intraseluler spermatozoa sehingga spermatozoa akan melemah dan bahkan bisa menyebabkan kematian (Ihsan, 2008). Berdasarkan data pada tabel di atas

menunjukkan bahwa persentase viabilitas selama penyimpanan pada semua perlakuan yaitu P1 (CEP₂ + 10% Kuning Telur), P2 (CEP₂ + 20% Kuning Telur), dan P3 (CEP₂ + 25% Kuning Telur) menunjukkan hasil yang baik yaitu jumlah spermatozoa yang hidup pada jam ke 3 masing-masing P1 sebesar 86.61±5.75 %; P2 sebesar 85.92±4.20% dan P3 sebesar 85.98±4.37%. Pada perlakuan P1 lebih baik dari P2 dan P2 lebih baik dari P3 namun secara statistik tidak berbeda nyata. Persentase viabilitas masih dikatakan baik karena jumlah spermatozoa yang hidup diatas 70 % sampai penyimpanan pada hari ke 4.

Tingginya persentase viabilitas pada pengencer CEP₂ dengan kuning telur disebabkan karena kandungan lipoprotein dan fosfolipid yang terdapat pada kuning telur mampu melindungi membran plasma spermatozoa karena terjadi peningkatan proporsi kolesterol dan fosfolipid yang melindungi spermatozoa dari *cold shock* (Crespilho *et al.*, 2012). Meskipun persentase viabilitas spermatozoa menunjukkan hasil yang baik sampai hari ke 4, spermatozoa dapat di inseminasikan berpedoman pada total spermatozoa motil yaitu jumlah spermatozoa progresif dikali konsentrasi.

Persentase Abnormalitas Spermatozoa

Spermatozoa yang memiliki morfologi yang berbeda dari spermatozoa yang normal disebut spermatozoa abnormal. Jumlah spermatozoa abnormal yang meningkat akan menyebabkan rendahnya kesuburan semen ternak. Rataan persentase abnormalitas pada berbagai perlakuan pengencer selama pendinginan yang diamati pada jam ke 1, 2,3, hari ke 1 sampai hari ke 6 ditampilkan pada Tabel 4.

Berdasarkan Tabel 4 menunjukkan bahwa persentase abnormalitas pengencer P1 (CEP₂ + 10% Kuning Telur), P2 (CEP₂ + 20%

Kuning Telur), dan P3 (CEP₂ + 25% Kuning Telur) memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata antar perlakuan ($p > 0,05$). Persentase abnormalitas masing-masing perlakuan pada jam ke 3 adalah P1 sebesar 6.69±0.62% ; P2 sebesar 6.24±1.48% dan P3 sebesar 7.16±1.03%. Perlakuan P2 pada jam ke 3 menunjukkan hasil yang lebih rendah daripada P1 dan P3 namun secara statistik tidak berbeda nyata.

Abnormalitas setelah pendinginan pada suhu 4-5 °C selama penyimpanan hari ke 5 masih menunjukkan angka di bawah 20% pada semua perlakuan, sehingga masih layak digunakan untuk melakukan inseminasi buatan. Spermatozoa yang memiliki persentase abnormalitas di bawah 20% dan tidak melebihinya, maka semen tersebut masih bisa dipakai untuk inseminasi (Alawiyah dan Hartono, 2006). Angka morfologi abnormal 8-10% tidak memberi pengaruh yang cukup berarti bagi fertilitas, tetapi jika abnormalitas lebih dari 25% dari satu ejakulat maka penurunan fertilitas tidak dapat diantisipasi (Parera dkk, 2009). Pendinginan menyebabkan peningkatan abnormalitas dan kerusakan sel namun masih dapat teratasi dengan adanya pengencer yang mengandung kuning telur yang didalamnya mengandung lesitin dan lipoprotein dan berfungsi melindungi dalam mempertahankan integritas selubung lipoprotein dari sel dan mencegah cekaman dingin (Ihsan, 2008). Kandungan lesitin dan lipoprotein pada kuning telur berfungsi untuk melindungi spermatozoa pada saat pengenceran, pendinginan maupun pembekuan. Perbedaan spermatozoa yang normal dan abnormal dibedakan berdasarkan bentuknya yang dapat dilihat dari pengamatan menggunakan mikroskop perbesaran 400 kali.

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

Perlakuan	Jam ke 1	Jam ke 2	Jam ke 3	Hari ke 1	Hari ke 2	Hari ke 3	Hari ke 4	Hari ke 5	Hari ke 6
P1	49.5± 1.58	51 ± 3.94	46.5± 3.37	36.5± 5.30	27.5 ± 6.35	19.5 ± 4.97	15.5 ± 4.38	10 ± 3.33	5 ± 3.33
P2	51 ± 2.11	51.5 ± 3.37	45.5 ± 1.58	37.5 ± 4.86	31.5± 3.37	22.5 ± 3.54	19 ± 3.94	12.5 ± 4.25	7.5 ± 5.40
P3	49.5± 1.58	49.5 ± 3.69	44.5 ± 3.69	35.5 ± 5.50	30.5 ± 5.50	22 ± 3.50	17.5 ± 4.86	13 ± 3.50	6.5 ± 4.74

Keterangan:

tidak berbeda nyata ($p>0,05$).

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

Perlakuan	Jam ke 1	Jam ke 2	Jam ke 3	Hari ke 1	Hari ke 2	Hari ke 3	Hari ke 4	Hari ke 5	Hari ke 6
P1	85.65± 5.60	89.93± 5.86	86.61± 5.75	84.66± 2.02	82.19± 1.81	79.45± 1.81	74.23± 2.60	69.92± 1.74	53.55± 2.34
P2	87.34± 2.98	88.39± 5.62	85.92± 4.20	86.07± 2.68	84.71± 3.42	79.46± 2.13	73.90± 2.14	70.86± 2.94	54.29± 3.31
P3	88.55± 3.45	89.49± 3.84	85.98± 4.37	83.34± 4.72	82.65± 5.46	78.38± 2.27	74.50± 2.04	70.72± 3.12	55.32± 2.86

Keterangan:

tidak berbeda nyata ($p>0,05$)

Tabel 4. Rataan Persentase Abnormalitas pada Berbagai Perlakuan Pengencer Selama Proses Pendinginan (%).

Perlakuan	Jam ke 1	Jam ke 2	Jam ke 3	Hari ke 1	Hari ke 2	Hari ke 3	Hari ke 4	Hari ke 5	Hari ke 6
P1	6.42± 1.59	6.04± 2.14	6.69± 0.62	7.06± 0.84	7.28± 0.84	6.33± 1.60	7.23± 1.44	12.23± 2.22	22.40± 1.71
P2	6.70± 2.58	4.92± 1.68	6.24± 1.48	6.43± 1.29	6.77± 0.76	5.82± 1.45	7.13± 1.04	14.95± 2.66	21.13± 0.95
P3	5.01± 3.67	5.71± 1.67	7.16± 1.03	5.87± 1.73	6.35± 1.47	7.42± 2.18	7.65± 1.59	14.02± 3.92	21.31± 1.03

Keterangan:

tidak berbeda nyata ($p>0,05$)

Total Spermatozoa Motil Selama 3 Jam

Kemungkinan terjadinya fertilisasi sangat ditentukan oleh jumlah spermatozoa motil progresif yang ada dalam suatu ejakulat baik pada semen cair maupun semen beku. Semen cair maupun semen beku yang

digunakan harus memiliki total spermatozoa motil yang optimal baik sebagai syarat terjadinya fertilisasi (Salim, 2012). Jumlah spermatozoa motil dapat dihitung dengan mengalikan konsentrasi spermatozoa dengan spermatozoa yang motil progresif (Nikbakht

and Saharkhiz, 2011). Rataan hasil penghitungan total spermatozoa motil pada berbagai perlakuan pada pendinginan jam ke 3 tertera pada Tabel 5.

Tabel 5. Total Spermatozoa Motil pada Pendinginan Jam ke 3

Perlakuan	Total Spermatozoa Motil (juta/ml)	Sd
P1	77.50	11.72
P2	76.80	11.13
P3	76.20	10.17
Nilai Harapan	40	

Total spermatozoa motil berdasarkan Tabel 5, menunjukkan semua perlakuan (CEP₂ + 10% Kuning Telur, CEP₂ + 20 % Kuning Telur, dan CEP₂ + 25 % Kuning Telur) memiliki total spermatozoa motil yang lebih tinggi dari nilai harapan 40 juta/ml spermatozoa motil. Penentuan nilai harapan 40 juta spermatozoa motil per mililiter ditetapkan berdasarkan ketentuan SNI semen beku sapi yaitu semen yang akan diinseminasikan memiliki konsentrasi spermatozoa 100 juta/ml dengan motilitas individu 40% (Anonimus, 2005).

Total spermatozoa motil tertinggi terdapat pada CEP₂ +10% Kuning Telur (77,50± 11,72 juta/ml) kemudian CEP₂+20% Kuning Telur (76,80 ± 11,13 juta/ml), dan CEP₂+25% Kuning Telur (76,20 ± 10,17 juta/ml). Hasil perhitungan total spermatozoa motil dengan nilai harapan 40 juta spermatozoa motil per mililiter pada semua perlakuan selama pendinginan hingga 3 jam menunjukkan hasil diatas 40 juta spermatozoa motil per mililiter dan artinya semua perlakuan masih bisa digunakan untuk IB.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kualitas spermatozoa sapi Friesian Holstein dalam pengencer CEP₂ (*Cauda Epididymal Plasma*) dengan penambahan 10 %, 20 %, dan 25 % kuning telur mampu bertahan sampai 3 jam. Penyimpanan pada

suhu dingin 4-5°C menunjukkan total spermatozoa motil yang cenderung baik adalah pengencer CEP₂ + 10 % kuning telur. Disarankan menggunakan pengencer CEP₂ dengan penambahan 10 % kuning telur untuk mempertahankan kualitas spermatozoa selama pendinginan.

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.Indon.Trop.Anim.Agric.* 31(1): 8 – 14.
- Anonimus. 2005. Semen Beku. SNI 01-4869.1-2005.
- Bansal, A.K. and G.S Bilaspuri.2008. Effect of Manganese on Bovine Sperm Motility, Viability, and Lipid Peroxidation *in vitro*. *Anim. Reprod.* 5 (3) : 90-96.
- Bayemi,P.H., I. Leinyuy, V.M. Nsongka, E.C. Webb, and A.L Ebangi. 2010. Viability of Cattle Sperm Under Different Storage Conditions In Cameroon. *Trop. Anim. Health Prod.* 42 (8) :1779-1783.
- Crespilho, A.M., M.F. Safilho, J.A. Dell’Aqua Jr, M. Nichi, G.A. Monteiro, B.R. Avanzi, A. Martins, and F.O. Papa. 2012. Comparison of *in vitro* and *in vivo* Fertilizing Potential of Bovine Semen Frozen in Egg Yolk or New Lecithin Based Extenders. *Livestock Science* 149: 1 – 6.
- Ducha, N., T. Susilawati, Aulanni’am, dan S. Wahyuningsih. 2013. Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Sapi Limousin Selama Penyimpanan pada Refrigerator dalam Pengencer CEP-2 dengan Suplementasi Kuning Telur. *Jurnal Kedokteran Hewan* 7 (1): 5 – 8.
- Garner, D.L., and E.S.E. Hafez. 2008. Spermatozoa and Seminal Plasma. In *Reproduction in Farm Animal*. E.S.E. Hafez (editor) 7th Edition. Lea and Febiger: 96-110.
- Herdiawan, I. 2004. Pengaruh Laju Penurunan Suhu dan Jenis Pengencer Terhadap Kualitas Semen Beku Domba Priangan. *JITV* 9 (2): 98-107.

- Ihsan, M.N. 2008. Upaya Peningkatan Konsentrasi Spermatozoa Hasil Pemisahan Dengan Sentrifugasi Gradien Densitas Percoll pada Sapi Friesian Holstein (FH). Disertasi. Program Pascasarjana Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang.
- Ismaya.2014. Bioteknologi Inseminasi Buatan pada Sapi dan Kerbau. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Lopes, F.P. 2002. Semen Collection and Evaluation in Ram. ANS 33161. University of Florida.
- Nikbakht, R. And N. Saharkhiz. 2011. The Influence of Sperm Morphology, Total Motile Sperm Count of Semen and the Number of Motile Sperm Inseminated in Sperm Samples on the Success of Intrauterine Insemination. *International Journal of Fertility and Sterility*. 5 (3): 168-173.
- Parera, F., Z. Prihatiny, D.F. Souhoka, dan M. Rizal. 2009. Pemanfaatan Sari Wortel Sebagai Pengencer Alternatif Spermatozoa Epididimis Sapi Bali. *J. Indon. Trop. Anim. Agric.* 34(1): 50 - 56.
- Partodihardjo. 1992. Ilmu Reproduksi Hewan. Mutiara Sumber Widya. Jakarta.
- Rizal, M. 2006. Pengaruh Penambahan Laktosa di dalam Pengencer Tris Terhadap Kualitas Semen Cair Domba Garut. *J.Indon.Trop.Anim.Agric.* 31(4): 224 - 231.
- Salim, M.A. 2012. Pengaruh Teknik Thawing Terhadap Kualitas dan Status Kapasitas Spermatozoa Semen Beku Sapi Bali, Sapi Madura dan Sapi Peranakan Ongole (PO). Tesis. Program Pasca Sarjana Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang.
- Susilawati, T. 2000. Analisa Membran Spermatozoa Sapi Hasil Filtrasi Sephadex G-200 dan Sentrifugasi Gradien Densitas Percoll pada Proses Seleksi Jenis Kelamin. Disertasi. Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga Surabaya.
- Susilawati, T. 2011^a. *Spermatology*. Universitas Brawijaya (UB) Press. Malang. ISBN 978-602-8960-04-5.
- Susilawati, T. 2011^b. Tingkat Keberhasilan Inseminasi Buatan dengan Kualitas dan Deposisi Semen yang Berbeda pada Sapi Peranakan Ongole. *J. Ternak Tropika* 12(2): 15-24.
- Susilawati, T. 2013. *Pedoman Inseminasi Buatan pada Ternak*. Universitas Brawijaya (UB) Press. Malang. ISBN 978-602-203-458-2.
- Rizal, M. 2006. Pengaruh Penambahan Laktosa di dalam Pengencer Tris Terhadap Kualitas Semen Cair Domba Garut. *J.Indon.Trop.Anim.Agric.* 31(4): 224 - 231.
- Tambing, S.N., M.R. Toelihere, T.L. Yusuf, dan I.K. Utama. 2000. Pengaruh Gliserol dalam Pengencer Tris Terhadap Kualitas Semen Beku Kambing Peranakan Etawah. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 5 (2): 1 - 8.
- Toelihere, M.R. 1993. *Inseminasi Buatan pada Ternak*. PT. Angkasa, Bandung.
- Triwulanningsih, E., P. Situmorang, T. Sugiarti, R.G. Sianturi, dan D.A. Kusumaningrum. 2003. Pengaruh Penambahan Glutathione pada Medium Pengencer Sperma terhadap Kualitas Semen Cair (Chilled Semen). *JITV* 8 (2): 91 - 97.
- 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 of Cauda Epididimal Plasma. *J Reprod Domestic Anim.* 39(6): 1 - 7.