

**PENGARUH PENGGUNAAN CEP-2 DENGAN SUPLEMENTASI
KUNING TELUR TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA
SAPI FH (*FRISIAN HOLSTEIN*) KUALITAS RENDAH
SELAMA PENYIMPANAN SUHU 4-5⁰C**

Dedi Muhammad¹⁾, Trinil Susilawati²⁾, Sri Wahjuningsih²⁾

¹Mahasiswa S1 Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya

²Dosen Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya

Email: trinil_susilawati@yahoo.com

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah pengaruh penggunaan CEP-2 dengan suplementasi kuning telur pada berbagai level terhadap kualitas spermatozoa sapi FH kualitas rendah selama penyimpanan pada suhu 4-5 °C. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Reproduksi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, tanggal 17 September hingga 18 November 2014. Metodologi yang digunakan adalah percobaan menggunakan rancangan acak kelompok (RAK). Penelitian ini menggunakan 3 perlakuan, yaitu (P1 = CEP-2 + 10% Kuning Telur, P2 = CEP-2 + 15% Kuning Telur, P3 = CEP-2 + 20% Kuning Telur) dengan 10 ulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pengencer CEP-2 dengan suplementasi 10%, 15%, 20% kuning telur tidak berpengaruh secara signifikan ($P > 0,05$) terhadap persentase motilitas, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa sapi FH yang memiliki kualitas rendah. Semen segar kualitas rendah dalam pengencer CEP-2 yang ditambahkan 10%, 15% dan 20% kuning telur dapat bertahan sampai hari ke 1 untuk dapat digunakan dalam proses IB. Disarankan untuk memanfaatkan semen segar sapi FH yang memiliki kualitas rendah untuk inseminasi buatan.

Kata kunci: semen, pengencer, motilitas, viabilitas, abnormalitas.

ABSTRACT

The objective of this study were to examine the effect of CEP-2 and various level of yolk on quality of Friesian Holstein bull sperm with low quality during storage in 4-5 °C. This study was carried out at Animal Reproduction Laboratory of Faculty of Animal Husbandry, Brawijaya University, on September 17th to November 18th, 2014. The study method used laboratory experimental. The experimental design was Randomized Completely Block Design and the data were analyzed by Analyze of Variance. There are three treatments in this study (P1 = CEP-2 + 10 % of yolk, P2 = CEP-2 + 15% of yolk and P3 = CEP-2 + 20% of yolk) and ten replications of each treatment. The results of the study showed that motility, viability and abnormality in all treatments was not significant differently ($P > 0.05$). CEP-2 extender with supplementation of yolk by 10%, 15% and 20% can survive until first day of storage and applicable for liquid semen. It is suggested to utilize fresh semen of Friesian Holstein with low quality for application of artificial insemination.

Keywords: semen, extender, motility, viability, abnormality.

PENDAHULUAN

Implementasi IB di lapang sebagian besar menggunakan semen beku. Akan tetapi penggunaan semen beku memiliki banyak kendala dan kekurangan. Spermatozoa yang disimpan dalam bentuk semen beku mudah mengalami kerusakan selama proses pembekuan karena pembentukan kristal es (Tambing, Toelihere, Yusuf, dan Utama, 2000) dan perubahan kadar elektrolit (Rizal, 2006) yang menyebabkan terjadinya kerusakan serta kematian spermatozoa. Situmorang (2003) juga menyatakan bahwa hambatan teknis dalam proses pembekuan semen diantaranya memerlukan peralatan yang mahal dan kompleks seperti pembeku, kontainer nitrogen cair dan lain sebagainya.

Penggunaan semen cair dalam implementasi IB dapat menurunkan tingkat kerusakan pada spermatozoa. Herdiawan (2004) menyatakan bahwa penurunan kualitas spermatozoa pada semen sapi yang dibekukan mengalami penurunan sekitar 30–60 % dibandingkan dengan semen segar. Penggunaan semen cair juga bisa menjadi solusi untuk mengatasi sulitnya ketersediaan nitrogen cair serta mahalnya tabung kontainer, karena syarat penyimpanan untuk semen cair tidak sesulit semen beku yaitu cukup pada suhu dingin (4-5 °C).

Semen cair dibuat dengan menambahkan bahan pengencer ke dalam semen segar (Ismaya, 2014). Prinsip dasar pengenceran adalah menyediakan lingkungan bagi spermatozoa yang secara fisik maupun kimiawi menyerupai plasma semen, tidak mengandung zat toksik, dan tidak menurunkan fertilitas. Pengencer *Cauda Epididymis Plasma* (CEP-2) adalah salah satu pengencer semen yang dikembangkan oleh Verberckmou, Van Soon, Dewulf, De Pauw, and De Kruif (2004) yang mengandung unsur - unsur yang hampir sama dengan plasma semen yang dihasilkan di dalam saluran organ reproduksi jantan yaitu bagian *cauda epididymis*.

Pengencer tersebut merupakan salah satu jenis pengencer yang sesuai untuk penyimpanan spermatozoa sapi pada suhu *refrigerator* (Ducha, Susilawati, Aulanni'am, dan Wahjuningsih, 2013). Penggunaan pengencer CEP-2 membutuhkan bahan makromolekul yang berfungsi sebagai krioprotektan ekstraseluler untuk melindungi spermatozoa dari kerusakan akibat *cold shock*. Salah satu bahan yang bisa digunakan sebagai krioprotektan ekstraseluler adalah kuning telur karena bahan tersebut mengandung suatu zat yang memiliki kemampuan melindungi spermatozoa dari kerusakan antara lain lipoprotein dan fosfolipid. Kuning telur sering digunakan dalam pengencer karena terbukti dapat memperpanjang daya hidup spermatozoa sapi (Moce and Graham, 2006), mengubah fase transisi lipid selama terjadi perubahan suhu sehingga dapat mengurangi sensitivitas terhadap suhu dingin (Zeron, Tomczak, Crowe, and Aray, 2002).

Berdasarkan uraian tersebut perlu dilakukan penelitian tentang penggunaan CEP-2 dengan suplementasi kuning telur pada berbagai level (konsentrasi) serta pengaruhnya terhadap kualitas spermatozoa sapi FH kualitas rendah sebagai upaya efisiensi penggunaan pejantan dan perbaikan mutu genetik ternak.

MATERI DAN METODE

Preparasi Pengencer

Bahan kimia pengencer CEP-2 terdiri dari NaCl 0,88 gr/l; KCl 0,52 gr/l; CaCl₂(H₂O)₂ 0,44 g/l; MgCl₂(H₂O)₆ 0,81 g/l; NaHCO₃ 1 g/l; NaH₂PO₄ 0,96 g/l; KH₂PO₄ 2,72 g/l; Fruktosa 9,9 g/l; Sorbitol 1 g/l; Tris Aminomethan 16,19 g/l; Gentamicin 0,05 g/l; Asam Sitrat 8,24 g/l. Bahan-bahan dicampur hingga menghasilkan osmolaritas 320 mOsm dan pH 6,6 (Verberckmoes *et al.*, 2004). Pengencer CEP-2 ditambahkan kuning telur segar (umur < 3 hari) dengan

konsentrasi 10%, 15 % dan 20 % kuning telur.

Koleksi dan Preparasi Semen

Semen segar dengan kualitas rendah berasal dari 10 kali proses penampungan dari 5 ekor sapi FH yang ditampung pada waktu yang berbeda. Setiap satu sapi ditampung satu kali dalam satu minggu menggunakan metode vagina buatan. Sapi tersebut dipelihara di BBIB Singosari. Semen segar yang digunakan harus memenuhi persyaratan yaitu motilitas individu $\geq 50\%$, motilitas massa minimal 2+, abnormalitas $\leq 20\%$ dan viabilitas $\geq 70\%$.

Pengamatan Motilitas Spermatozoa

Semen cair diambil satu tetes menggunakan ose, diletakkan diatas *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 (Hafez, 2008; Susilawati, 2011). Penilaian motilitas individu ini dilihat berdasarkan pada spermatozoa yang bergerak progresif kedepan (pergerakan mundur dan melingkar tidak ikut disertakan) dibandingkan dengan spermatozoa yang diam di tempat (Toelihere, 1993; Garner dan Hafez, 2008; Bayemi *et al*, 2010; Susilawati, 2013; Ismaya, 2014).

Pengamatan Viabilitas Spermatozoa

Penentuannya dengan membuat ulasan eosin-negrosin, kemudian dihitung dalam bentuk persentase antara spermatozoa yang hidup dan mati. Pengamatan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali. Jumlah spermatozoa yang hidup dan mati yang terhitung minimal 200 spermatozoa (Susilawati, 2011). Pada pewarnaan eosin-negrosin, spermatozoa yang mati akan menyerap warna merah, sedangkan spermatozoa yang hidup tidak menyerap warna atau berwarna putih (Melita, Dasrul dan Adam, 2014).

Pengamatan Abnormalitas Spermatozoa

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

Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis menggunakan analisis ragam. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 3 perlakuan yaitu (P1 = CEP-2 + 10 % kuning telur), (P2 = CEP-2 + 15 % Kuning Telur), (P3 = CEP-2 + 20 % Kuning Telur) dan pengelompokan berdasarkan waktu penampungan. Selanjutnya apabila di antara perlakuan menunjukkan perbedaan pengaruh yang nyata atau sangat nyata, akan dilakukan dengan Uji Jarak Berganda Duncan (*Duncan's Multiple Range Test*). Model matematis untuk RAK adalah:

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

Keterangan:

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

Pada akhir waktu penyimpanan yang nilai persentase motilitasnya sekitar 40% dilakukan perhitungan total spermatozoa motil. Caranya dengan mengalikan persentase motilitas masing-

masing sampel dengan konsentrasi spermatozoa dalam sampel tersebut (Nikbakht *and* Saharkhiz. 2011). Adapun persamaan total spermatozoa motil adalah sebagai berikut:

$$\text{Total spermatozoa motil (juta/ml)} = SM \times KS$$

Keterangan:

SM = Spermatozoa motil (%)

KS = Konsentrasi spermatozoa (juta/ml)

Nilai harapan total spermatozoa motil adalah 40 juta/ml berdasarkan ketentuan SNI (Persentase motilitas >40% dan konsentrasi spermatozoa > 25 juta/ 0.25 ml atau 100 juta/ml).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemeriksaan Semen Segar

Evaluasi kualitas semen segar perlu dilakukan untuk mengetahui apakah kualitas spermatozoa yang digunakan memenuhi syarat untuk penelitian, serta sebagai acuan untuk mengetahui apakah kualitas spermatozoa setelah pengenceran mengalami penurunan. Evaluasi yang dilakukan adalah evaluasi makroskopis yang meliputi volume, pH, warna, dan konsistensi spermatozoa. Kemudian dilanjutkan dengan evaluasi mikroskopis yang meliputi motilitas massa, persentase motilitas individu, persentase viabilitas, persentase abnormalitas, dan konsentrasi. Rata-rata dan simpangan baku dari kualitas semen segar sapi FH yang dinilai dapat dilihat pada Tabel 1.

Rata-rata hasil evaluasi volume semen segar dari sapi FH yang digunakan untuk penelitian adalah $6,96 \pm 0,64$ ml. Garner *and* Hafez (2008) menyatakan bahwa volume semen sapi hasil penampungan berkisar antara 5-8 ml. Warna semen segar yang digunakan untuk penelitian dari putih kekuningan hingga putih susu.

Tabel 1. Rata-rata Kualitas Semen Segar Sapi FH yang digunakan dalam penelitian

Parameter	Rata-rata \pm sd
Makroskopis	
Volume per ejakulat (ml)	$6,96 \pm 0,64$
Warna	Putih kekuningan-putih susu
pH	$6,44 \pm 0,18$
Konsistensi	Sedang
Mikroskopis	
Motilitas Massa	++
Persentase Motilitas Individu (%)	$57 \pm 4,22$
Persentase Viabilitas (%)	$87,77 \pm 0,97$
Persentase Abnormalitas (%)	$3,36 \pm 0,49$
Konsentrasi (juta/ml)	$1106,60 \pm 195,79$

Susilawati (2011) menyatakan bahwa semen sapi pada umumnya berwarna putih kekuning-kuningan atau hampir seputih susu. Hal tersebut karena adanya riboflavin di dalam semen. Semen segar yang digunakan untuk penelitian memiliki pH dengan rata-rata $6,44 \pm 0,18$. Hal tersebut menunjukkan pH semen yang digunakan untuk penelitian adalah normal, sebagaimana yang disampaikan oleh Ax *et al.*, (2008) bahwa pH semen sapi berkisar antara 6,4 sampai 7,8. Sedangkan menurut Ismaya (2014), semen sapi mempunyai pH 6,2 sampai 6,8. Konsistensi atau tingkat kekentalan semen berkisar mulai dari kental hingga encer. Susilawati (2011) menyatakan bahwa konsistensi semen berkorelasi positif dengan konsentrasi spermatozoa.

Rata-rata persentase motilitas individu semen segar sapi FH yang digunakan untuk penelitian adalah $57,00 \pm 4,22$ %. Persentase motilitas tersebut tergolong semen kualitas rendah (*low quality*). Akan tetapi semen tersebut masih

bisa digunakan untuk penelitian sebagaimana yang disampaikan oleh Toelihere (1993) yang menyatakan bahwa persentase motilitas spermatozoa dibawah 40% menunjukkan semen yang kurang baik dan berhubungan dengan infertilitas. Kebanyakan pejantan yang fertil mempunyai persentase motilitas individu 50-80%. Rata-rata konsentrasi spermatozoa semen segar sapi FH yang digunakan dalam penelitian adalah $1.106,60 \pm 195,79$ juta/ml. Rata-rata persentase viabilitas spermatozoa sapi FH yang digunakan untuk penelitian adalah $87,77 \pm 0,77$ %. Hal tersebut menunjukkan bahwa semen sapi yang digunakan dalam penelitian dalam kategori layak digunakan. Hal tersebut sesuai dengan Ducha dkk., (2013) yang menyatakan bahwa semen segar yang akan diproses harus mengandung spermatozoa yang hidup minimal 70%. Rata-rata persentase abnormalitas semen segar sapi FH yang digunakan untuk penelitian adalah $3,36 \pm 0,49$ %. Nilai tersebut menunjukkan bahwa spermatozoa

yang memiliki morfologi normal sebanyak 96,64%. Hal tersebut menunjukkan bahwa berdasarkan persentase normalitas semen segar yang digunakan untuk penelitian memiliki kategori yang baik. Ismaya (2014) menyatakan bahwa kualitas semen termasuk rendah dan daya konsepsinya rendah apabila persentase abnormalitasnya lebih dari 20%. Pada sapi, jika abnormalitas mencapai 30-35% dapat berakibat infertilitas.

Pemeriksaan Motilitas Spermatozoa

Setelah pengenceran, evaluasi yang pertama kali dilakukan adalah persentase motilitas, karena persentase motilitas merupakan indikator terpenting dalam penggunaan semen untuk inseminasi buatan. Rata-rata dan simpang baku persentase motilitas spermatozoa sapi FH dengan pengencer CEP-2 dan kuning dengan konsentrasi 10%, 15%, 20% selama penyimpanan pada suhu 4-5 °C terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata Persentase Motilitas Spermatozoa Sapi FH dalam Pengencer CEP-2 dan Kuning Telur pada Berbagai Level Selama Penyimpanan Suhu 4-5 °C

PERLAKUAN	Rata-rata motilitas selama penyimpanan (%) ± Simpang baku									Rata-rata (%)
	Jam 1	Jam 2	Jam 3	H1	H2	H3	H4	H5	H6	
P1 (CEP-2 + KT 10%)	49,50	47,50	43,50	36,00	27,50	19,50	15,50	10,00	5,00	28,22
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	
	1,58	2,64	3,37	4,59	6,35	4,97	4,38	3,33	3,33	
P2 (CEP-2 + KT 15%)	47,50	47,50	45,50	37,00	31,50	20,50	17,50	12,50	6,50	29,56
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	
	4,86	4,86	3,69	4,22	3,37	3,16	3,50	4,25	4,12	
P3 (CEP-2 + KT 20%)	49,00	48,50	46,00	37,50	31,50	22,50	18,00	13,00	7,00	30,33
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	
	5,68	5,30	5,16	4,86	3,37	3,54	4,83	3,50	4,83	

Keterangan: KT = Kuning Telur, H = Hari
Tidak berbeda nyata ($P > 0,05$)

Rata-rata persentase motilitas spermatozoa sapi FH dari nilai terbesar hingga terkecil selama penyimpanan hingga hari ke 6 pada suhu 4-5 °C berturut-turut

adalah P3 (CEP-2 + KT 20%) sebesar 30,3%, P2 (CEP-2 + KT 15%) sebesar 29,6% dan P1 (CEP-2 + KT 10%) sebesar 28,2%. Meskipun tidak berbeda secara

signifikan akan tetapi P3 mampu mempertahankan persentase motilitas lebih tinggi dibandingkan perlakuan yang lainnya. Ducha dkk., (2013) yang menyatakan bahwa penambahan kuning telur dengan konsentrasi 20% pada pengencer CEP-2 mampu mempertahankan motilitas spermatozoa sapi Limousin lebih baik dibandingkan dengan pengencer yang memiliki konsentrasi kuning telur di bawah 20%. Pengencer CEP-2 yang dikembangkan oleh Verbackmoes *et al.*, (2004) disesuaikan dengan kondisi epididimis pada saluran reproduksi jantan baik dari komposisi ion, pH, maupun osmolaritasnya. Pengencer semen masih membutuhkan makromolekul seperti kuning telur yang memiliki fungsi untuk melindungi spermatozoa selama penyimpanan pada suhu dingin. Ismaya (2014) menyatakan bahwa kuning telur bisa digunakan sebagai bahan makromolekul dalam pengencer karena mampu melindungi kesempurnaan koloid pelindung spermatozoa. Bergeron *and* Puttaswamy (2006) menjelaskan bahwa komponen utama kuning telur yang memberikan perlindungan spermatozoa selama penyimpanan diantaranya adalah *low density lipoprotein* (LDL), fosfolipid, dan kolesterol. LDL dapat berikatan dengan faktor merugikan dari seminal plasma sapi sehingga dapat mencegah hilangnya membran lipid dan kolesterol. Zeron *et al.*, (2002) fosfolipid dari kuning telur mampu berasosiasi dengan membran spermatozoa. Oleh karena itu, fosfolipid memiliki peran saat terjadi fase transisi lipid (fase cair menjadi fase gel) selama terjadi perubahan suhu, sehingga dapat mengurangi sensitifitas terhadap suhu dingin. Sedangkan kolesterol dari kuning telur menurut Moce *and* Graham (2006) dapat meningkatkan daya hidup spermatozoa setelah proses pembekuan.

Persentase motilitas spermatozoa dari P1, P2 dan P3 yang memenuhi syarat

sesuai SNI untuk dapat digunakan dalam inseminasi buatan (motilitas $\geq 40\%$) hanya bertahan hingga waktu penyimpanan jam ke 3, yaitu P1 sebesar $43,50 \pm 3,37\%$, P2 sebesar $45,50 \pm 3,69\%$, P3 sebesar $46,00 \pm 5,16\%$. Meskipun motilitas dari semua perlakuan (P1, P2, P3) mampu bertahan sesuai SNI hanya sampai jam ke 3, akan tetapi masih memungkinkan digunakan untuk IB hingga penyimpanan hari ke 1. Hasil uji *Chi Square* menunjukkan bahwa persentase motilitas spermatozoa dengan perlakuan P1, P2, P3 pada hari penyimpanan ke 1 tidak berbeda secara signifikan dengan nilai SNI (40%), sehingga masih dapat digunakan untuk IB. Hal tersebut sesuai dengan Susilawati (2011) yang menyatakan bahwa semen beku yang mempunyai kualitas PTM di bawah standar SNI (20-40%) masih dapat menghasilkan kebuntingan pada ternak akseptor inseminasi buatan yaitu berhasil bunting 85-95%. Semen beku yang mempunyai kualitas PTM di atas 20% dapat digunakan untuk inseminasi buatan, dan sebaiknya dilakukan pada posisi 4+ karena menghasilkan kebuntingan yang lebih tinggi dari pada posisi 4. Hal tersebut berarti bahwa semen cair dalam penelitian ini masih bisa digunakan untuk inseminasi buatan dan berpeluang menghasilkan kebuntingan hingga penyimpanan sekitar hari ke 3.

Pemeriksaan Viabilitas Spermatozoa

Rata-rata dan simpang baku viabilitas spermatozoa sapi FH dalam pengencer CEP-2 dan kuning telur pada level 10%, 15% dan 20% terlihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata Persentase Viabilitas Spermatozoa Sapi FH dalam Pengencer CEP-2 dan Kuning Telur pada Berbagai Level Selama Penyimpanan Suhu 4-5 °C

PERLAKUAN	Rata-rata viabilitas selama penyimpanan (%) ± Simpang baku									Rata-rata (%)
	Jam 1	Jam 2	Jam 3	H1	H2	H3	H4	H5	H6	
P1 (CEP-2 + KT 10%)	85,65	88,73	83,91	83,78	82,19	78,51	73,42	68,23	53,05	75,50
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	
	5,60	6,56	5,21	2,22	1,81	1,39	2,02	3,03	2,84	
P2 (CEP-2 + KT 15%)	85,67	86,86	84,08	84,17	83,42	78,75	73,84	67,62	53,08	75,51
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	
	4,43	2,06	3,69	2,03	3,46	3,60	3,16	6,72	3,92	
P3 (CEP-2 + KT 20%)	87,34	88,39	85,92	85,95	84,06	79,46	73,90	70,86	54,29	78,91
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	
	2,98	5,62	4,20	2,50	3,69	2,13	2,14	2,94	3,31	

Keterangan: KT = Kuning Telur, H = Hari.
Tidak berbeda nyata ($P > 0,05$)

Perlakuan P3 (CEP-2 + KT 20%) memberikan rata-rata persentase viabilitas dengan nilai tertinggi selama penyimpanan pada suhu 4-5 °C yaitu sebesar 78,9%. Kemudian diikuti perlakuan P2 (CEP-2 + KT 15%) sebesar 75,5% dan P1 (CEP-2 + KT 10%) sebesar 75,5%. Ducha dkk., (2013) menyatakan bahwa penggunaan kuning telur dengan konsentrasi 20% dalam pengencer CEP-2 memberikan hasil yang terbaik dalam mempertahankan persentase viabilitas spermatozoa sapi Limousin selama pendinginan.

Persentase viabilitas spermatozoa dalam pengencer CEP-2 dan kuning telur pada level 10%, 15% dan 20% menunjukkan masih diatas 70% sampai hari ke 4. Hal ini menunjukkan bahwa semen tersebut memiliki persentase viabilitas sesuai standar untuk inseminasi buatan hingga hari ke 4. Ax *et al.*, (2008) menyatakan bahwa standar minimal persentase viabilitas untuk inseminasi buatan sapi berkisar 60-75%.

Persentase viabilitas spermatozoa dapat mengalami penurunan selama penyimpanan. Pereira, Becker, Siqueira, Ferreira, Severo, Truzzi, Oliveira, and Goncalves (2010) menyatakan bahwa

persentase viabilitas spermatozoa mengalami penurunan karena terjadi kerusakan membran plasma dan membran akrosom akibat dari pengaruh *cold shock*. Ihsan (2008) menambahkan bahwa persentase viabilitas spermatozoa tergantung pada keutuhan membran spermatozoa. Kerusakan membran spermatozoa akan menyebabkan terganggunya metabolisme intraseluler spermatozoa sehingga spermatozoa akan melemah dan bahkan bisa mengalami kematian. Susilawati (2011) juga menegaskan bahwa membran merupakan bagian terluar spermatozoa yang berfungsi untuk melindungi spermatozoa, sehingga apabila membran rusak maka spermatozoa akan mati, dan hanya spermatozoa yang memiliki membran utuh yang akan mampu melakukan fertilisasi.

Pemeriksaan Abnormalitas Spermatozoa

Rata-rata dan simpang baku persentase abnormalitas spermatozoa sapi FH dalam pengencer CEP-2 dan kuning telur pada level 10%, 15% dan 20% terlihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Rata-rata Persentase Abnormalitas Spermatozoa Sapi FH dalam Pengencer CEP-2 dan Kuning Telur pada Berbagai Level Selama Penyimpanan Suhu 4-5 °C

PERLAKUAN	Rata-rata abnormalitas selama penyimpanan (%) ± Simpang baku									Rata-rata (%)
	Jam 1	Jam 2	Jam 3	H1	H2	H3	H4	H5	H6	
P1 (CEP-2 + KT 10%)	6,42	6,04	6,69	7,06	7,25	7,18	7,23	13,14	22,40	9,27
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	
	1,59	2,14	0,62	0,84	0,67	1,45	1,44	3,20	1,71	
P2 (CEP-2 + KT 15%)	8,37	6,00	6,80	7,49	7,51	7,95	7,94	15,70	21,53	9,92
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	
	1,10	1,54	1,28	0,87	0,72	0,62	1,28	1,97	1,62	
P3 (CEP-2 + KT 20%)	6,70	4,92	6,24	6,43	6,82	7,10	7,13	14,22	21,13	8,97
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	
	2,58	1,68	1,48	1,29	0,71	0,68	1,04	2,44	0,95	

Keterangan: KT = Kuning Telur, H = Hari.
Tidak berbeda nyata ($P > 0,05$)

Perlakuan P3 (CEP-2 + KT 20%) menghasilkan rata-rata persentase abnormalitas sebesar 9,0 %, kemudian diikuti P1 (CEP-2 + KT 10%) sebesar 9,3%, selanjutnya P2 (CEP-2 + KT 15%) sebesar 9,9%. Ihsan (2008) menyatakan bahwa pendinginan menyebabkan peningkatan abnormalitas dan kerusakan sel spermatozoa namun masih dapat teratasi dengan adanya pengencer yang mengandung kuning telur, karena di dalam kuning telur terdapat lesitin dan lipoprotein yang berfungsi untuk melindungi dan mempertahankan integritas selubung lipoprotein sel spermatozoa serta mencegah cekaman dingin.

Seluruh perlakuan (P1, P2 dan P3) yang menunjukkan persentase abnormalitas dibawah 10% hanya sampai waktu penyimpanan hari ke 4, yaitu P3 sebesar $7,13 \pm 1,04\%$, P1 sebesar $7,23 \pm 1,44\%$ dan P2 sebesar $8,17 \pm 1,28\%$. Hal tersebut menunjukkan bahwa persentase abnormalitas spermatozoa sapi FH selama penyimpanan dalam pengencer CEP-2 dan

Total Spermatozoa Motil

Total spermatozoa motil merupakan hasil perkalian antara konsentrasi spermatozoa dengan motilitas spermatozoa dalam suatu semen cair. Hal ini sesuai

kuning telur pada suhu 4-5 °C masih memenuhi standar untuk inseminasi buatan hingga hari ke 4. Hal tersebut sesuai dengan Ax *et al.*, (2008) yang menyatakan bahwa persentase abnormalitas spermatozoa apabila sudah lebih dari 20%, maka fertilitas pejantan diragukan. Semen yang mempunyai abnormalitas 15% atau lebih tidak dapat digunakan untuk inseminasi buatan. Susilawati (2011) menambahkan bahwa semen domba dengan kualitas tinggi memiliki persentase abnormalitas sebesar < 10%. Akan tetapi berbeda Alawiyah dan Hartono (2006) menyatakan bahwa spermatozoa yang memiliki persentase abnormalitas dibawah 20% masih bisa digunakan untuk inseminasi buatan. Parera, Prihatiny, Souhoka, dan Rizal (2009) menambahkan bahwa abnormalitas spermatozoa dengan nilai 8-10% tidak memberikan pengaruh yang cukup berarti terhadap fertilitas, namun apabila melebihi dari 25% maka penurunan fertilitas tidak dapat diantisipasi.

dengan Nikbakht *and* Saharkhiz (2011) yang menyatakan bahwa jumlah spermatozoa motil dapat dihitung dengan mengalikan konsentrasi spermatozoa dengan spermatozoa yang motil progresif. Apabila total spermatozoa yang motil diketahui,

maka dapat diketahui pula apakah semen cair yang digunakan memenuhi syarat untuk inseminasi buatan. Salim dkk., (2012) menyatakan bahwa jumlah spermatozoa motil progresif dalam semen cair maupun semen beku menentukan tingkat keberhasilan terjadinya fertilisasi. Rata-rata total spermatozoa yang motil pada penyimpanan jam ke 3 (motilitas $\geq 40\%$) dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Rata-rata Total Spermatozoa Motil Sapi FH dalam Pengencer CEP-2 dengan Kuning Telur pada Berbagai Level Selama Penyimpanan Suhu 4-5 °C pada Jam ke 3

Perlakuan	Rata-rata Total Spermatozoa Motil (juta/ml)	sd
P1 (CEP-2 + KT 10%)	81,2	24,8
P2 (CEP-2 + KT 15%)	76,5	11,3
P3 (CEP-2 + KT 20%)	79,2	17,4
Nilai Harapan	40,0	-

Keterangan: KT = Kuning telur

Tabel 5 menunjukkan bahwa rata-rata total spermatozoa motil dari terbesar hingga terkecil secara berurutan yaitu P1 (CEP-2 + KT 10%) sebesar $81,2 \pm 24,8$ juta/ ml, P3 (CEP-2 + KT 20%) sebesar $79,2 \pm 17,4$ juta/ ml dan P2 (CEP-2 + KT 15%) sebesar $76,5 \pm 11,3$ juta/ ml. P1 menunjukkan hasil yang lebih tinggi karena konsentrasi semen cair pada perlakuan tersebut memiliki nilai yang lebih tinggi dari pada perlakuan P2 dan P3. Semua perlakuan (P1, P2 dan P3) memiliki nilai yang lebih tinggi dari pada nilai yang diharapkan yaitu 40 juta/ ml. Hal tersebut berarti bahwa total spermatozoa yang motil pada penyimpanan jam ke 3 masih memenuhi standart SNI sebagai semen untuk IB. Penentuan nilai harapan 40 juta/ ml ditetapkan berdasarkan ketentuan SNI tentang semen beku sapi. SNI menyatakan bahwa konsentrasi spermatozoa dalam dosis straw adalah 25 juta/dosis staw mini (100 juta/ ml) dengan motilitas individu sebesar 40% (BSN, 2005). Rata-rata total spermatozoa yang motil pada penyimpanan hari ke 1 dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Rata-rata Total Spermatozoa Motil Sapi FH dalam Pengencer CEP-2 dengan Kuning Telur pada Berbagai Level Selama Penyimpanan Suhu 4-5 °C pada Hari ke 1

Perlakuan	Rata-rata Total Spermatozoa Motil (juta/ml)	sd
P1 (CEP-2 + KT 10%)	66,4	18,4
P2 (CEP-2 + KT 15%)	62,0	9,3
P3 (CEP-2 + KT 20%)	63,9	10,8
Nilai Harapan	40,0	-

Keterangan: KT = Kuning telur

Tabel 6 menunjukkan bahwa semua perlakuan (P1, P2 dan P3) pada penyimpanan hari ke 1 memiliki nilai yang lebih tinggi dari pada nilai yang diharapkan yaitu 40 juta/ ml. Hal tersebut menunjukkan bahwa semen cair dari semua perlakuan yang disimpan hingga hari ke 1 pada suhu 4-5 °C masih bisa digunakan untuk IB.

KESIMPULAN DAN SARAN

Semen segar kualitas rendah dalam pengencer CEP-2 yang ditambahkan 10%, 15% dan 20% kuning telur dapat bertahan hingga hari ke 1 untuk dapat digunakan dalam proses IB. Penelitian ini menggunakan semen segar kualitas rendah dengan persentase motilitas rata-rata sebesar 57% dan dapat bertahan selama 1 hari untuk dapat digunakan IB, sehingga disarankan untuk dilakukan pemanfaatan terhadap semen kualitas rendah dalam aplikasi IB semen cair.

DAFTAR PUSTAKA

- Alawiyah, D., dan M. Hartono. 2006. Pengaruh penambahan vitamin E dalam bahan pengencer sitrat kuning telur terhadap kualitas semen beku kambing Boer. *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*. 31(1): 8-14.
- Ax, R., M. Dally, B. Didion, R.W. Lenz, C.C. Love, D.D. Varner, B. Hafez,

- and M.E. Bellin. 2008. Semen Evaluation. In *Reproduction in Farm Animal*. E.S.E. Hafez (editor) 7th Edition. Lea and Febiger: 82-370.
- BSN. 2005. Semen Beku Sapi. Badan Standarisasi Nasional. SNI 01-4869.1-2005. BSN. Jakarta.
- Bergeron A. and M. Puttaswamy. 2006. New insights towards understanding the mechanism of sperm protection by egg yolk and milk. *Journal of Molecular Reproduction and Development*. 73: 1338-1344.
- Ducha, N., T. Susilawati, Aulanni'am, dan S. Wahjuningsih. 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 animals 7th edition. Edited by E.S.E Hafez and B. Hafez. 2008. Lippincott & Williams. Baltimore, Maryland. USA: 96-109.
- Hafez, E.S.E. 2008. Preservation and Cryopreservation of Gamet and Embryos. In *Reproduction in Farm Animal*. E.S.E. Hafez and B. Hafez (editors) 7th Edition. Blackwell Publishing: 431-442.
- Herdiawan, I. 2004. Pengaruh laju penurunan suhu dan jenis pengencer terhadap kualitas semen beku domba Priangan. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*. 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. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. ISBN 979-420-848-5.
- Melita, D., Dasrul, dan M. Adam. 2014. Pengaruh umur pejantan dan frekuensi ejakulasi terhadap kualitas spermatozoa sapi Aceh. *Jurnal Medika Veterinaria*. 8(1): 15-19.
- Moce, E. and J.K. Graham. 2006. Cholesterol-loaded cyclodextrins added to fresh bull ejaculate improve sperm cryosurvival. *Journal of Animal Science*. 84(4): 826-833.
- 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. *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*. 34(1): 50 -56.
- Pereira, G.R., E.G. Becker, L.C. Siqueira, R. Ferreira, C.K. Severo, V.S. Truzzi, J.F.C. Oliveira, and P.B.D. Goncalves. 2010. Assesment of bovine spermatozoa viability using different cooling protocols prior to cryopreservation. *Italian Journal of Animal Science*. 9(4): 234-237.
- Rizal, M. 2006. Pengaruh penambahan laktosa di dalam pengencer tris terhadap kualitas semen cair domba Garut. *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*. 31(4): 224-231.
- Salim, M. A., T. Susilawati, S. Wahjuningsih. 2012. Pengaruh metode thawing terhadap kualitas

- semen beku sapi Bali, sapi Madura dan sapi PO. *Jurnal Agripet*. 12(2): 14-19.
- Situmorang, P. 2003. Prospek penggunaan semen dingin (chilled semen) dalam usaha meningkatkan produksi sapi perah. *Wartazoa*. 13 (1): 1-7.
- Susilawati, T. 2011. *Spermatology*. Universitas Brawijaya (UB) Press. Malang. ISBN 978-602-8960-04-5.
- _____. 2013. *Pedoman Inseminasi Buatan pada Ternak*. Universitas Brawijaya (UB) Press. Malang. ISBN 978-602-203-458-2.
- 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. *Fisiologi Reproduksi pada Ternak*. PT. 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 of cauda epididimal plasma. *Journal of Reproduction Domestic Animal*. 39(6): 1-7.
- Zeron, Y., M. Tomczak, J. Crowe, and V. Arav. 2002. The effect of liposome on thermotropic membrane phase transitions of bovine spermatozoa and oocytes: Implications for reducing chilling sensitivity. *Journal of Cryobiology*. 45(2): 143-152.