

**PENGARUH PENAMBAHAN DOSIS RAFINOSA DALAM PENGECER
TRIS KUNING TELUR TERHADAP MOTILITAS, PERSENTASE HIDUP
DAN ABNORMALITAS SPERMATOZOA SAPI ONGOLE**

(Skripsi)

Oleh

Iis Nurlia



**JURUSAN PETERNAKAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
2016**

ABSTRAK

PENGARUH PENAMBAHAN DOSIS RAFINOSA DALAM PENGECER TRIS KUNING TELUR TERHADAP MOTILITAS, PERSENTASE HIDUP, DAN ABNORMALITAS SPERMATOZOA SAPI ONGOLE

Oleh

Iis Nurlia

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 16—18 Mei 2016 di Laboratorium Unit Pelayanan Teknis Daerah Balai Inseminasi Buatan Daerah Lampung Tengah, menggunakan semen dari seekor sapi Ongole. Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah mengetahui pengaruh penambahan dosis rafinosa yang berbeda dan dosis rafinosa optimum yang terdapat dalam pengencer tris kuning telur yang dapat mempertahankan persentase motilitas, persentase hidup, dan persentase abnormalitas spermatozoa semen beku sapi Ongole. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan 6 perlakuan dosis rafinosa (0,5%; 1,0%; 1,5%; 2,0%; 2,5%; 3,0%) dalam bahan pengencer tris kuning telur dan 4 kali ulangan. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis ragam pada taraf nyata 5% dan atau 1% dilanjutkan dengan uji polinomial ortogonal dengan taraf nyata 5% atau 1% untuk peubah yang berbeda nyata.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan dosis rafinosa dalam pengencer tris kuning telur menunjukkan pengaruh tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) terhadap persentase motilitas setelah *prefreezing*, persentase motilitas *Post Thawing Motility*, persentase hidup spermatozoa *Post Thawing Motility*, persentase abnormalitas spermatozoa setelah ekuilibrasasi, persentase abnormalitas spermatozoa setelah *prefreezing*, dan persentase abnormalitas spermatozoa *Post Thawing Motility*. Penambahan dosis rafinosa dalam bahan pengencer tris kuning telur berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap persentase motilitas spermatozoa setelah ekuilibrasasi berpola regresi linier dengan persamaan $y = 65,58 - 2,36x$ dan persentase spermatozoa hidup setelah *prefreezing* berpola regresi linier dengan persamaan $y = 79,13 - 4,68x$ serta memberikan pengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap persentase spermatozoa hidup setelah ekuilibrasasi berpola regresi linier dengan persamaan $y = 81,23 - 4,47x$.

Kata Kunci : Sapi Ongole, Kualitas Semen, Rafinosa, Tris Kuning Telur

**PENGARUH PENAMBAHAN DOSIS RAFINOSA DALAM PENGECER
TRIS KUNING TELUR TERHADAP MOTILITAS, PERSENTASE
HIDUP DAN ABNORMALITAS SPERMATOZOA SAPI ONGOLE**

Oleh

Iis Nurlia

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA PETERNAKAN**

Pada

**Jurusan Peternakan
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2016**

Judul Skripsi

**: PENGARUH PENAMBAHAN DOSIS
RAFINOSA DALAM PENGENCER TRIS
KUNING TELUR TERHADAP MOTILITAS,
PERSENTASE HIDUP DAN
ABNORMALITAS SPERMATOZOA SAPI
ONGOLE**

Nama Mahasiswa

: Tis Nurlia

Nomor Pokok Mahasiswa

: 1214141037

Jurusan

: Peternakan

Fakultas

: Pertanian



Sri Suharyati, S.Pt., M.P.
NIP 19680728 199402 2 002

drh. Madi Hartono, M.P.
NIP 19660708 199203 1 004

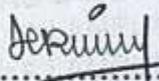
2. Ketua Jurusan Peternakan

Sri Suharyati, S.Pt., M.P.
NIP 19680728 199402 2 002

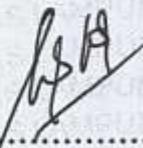
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : **Sri Suharyati, S.Pt., M.P.**


.....

Sekretaris : **drh. Madi Hartono, M.P.**

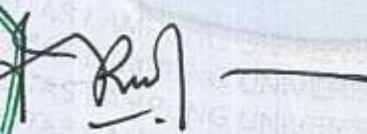

.....

Penguji
Bukan Pembimbing : **Siswanto, S.Pt., M.Si.**


.....

2. Dekan Fakultas Pertanian




Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.
NIP. 19611020 198603 1 002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **30 Agustus 2016**

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Tugusari pada 17 Januari 1994 sebagai anak keempat dari empat bersaudara, putri dari pasangan Bapak Sutrisno dan Ibu Leginem. Penulis menyelesaikan pendidikan sekolah dasar (SD) pada tahun 2006 di SD Negeri 2 Halangan Ratu, Pesawaran; pendidikan sekolah menengah pertama (SMP) pada tahun 2009 di SMP Swadhipa 3 Tugusari, Pesawaran; dan sekolah menengah atas (SMA) pada tahun 2012 di SMA Negeri 1 Natar, Lampung Selatan. Penulis terdaftar sebagai mahasiswa Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung melalui Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN) jalur tertulis pada 2012.

Selama masa perkuliahan penulis pernah Praktik Umum (PU) di BBIB Singosari Malang, Jawa Timur; dan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Kampung Bogatama, Kecamatan Penawar Tama, Tulang Bawang. Penulis aktif dalam kegiatan Himpunan Mahasiswa Peternakan (HIMAPET) FP UNILA sebagai anggota bidang pengabdian masyarakat periode 2014—2015. Penulis juga pernah menjadi asisten dosen mata kuliah matematika dasar, statistika dasar, dan teknologi reproduksi.

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Dengan kerendahan hati

Dan

Harapan meraih ridho illahi robbi

Ku persembahkan karya kecil ini untuk

Kedua orang tuaku tercinta

Yang telah memberikan kasih sayang kepadaku,

Selalu mendo'akan dan memberikan yang terbaik untukku.

Kakakku

Yang telah memberikan kasih sayang, canda tawa dan semangat

Agar menjadi adik yang bijaksana.

Keluarga besar

Yang turut mensupport juga membantu, baik suka maupun duka dan juga

kawan - kawan seperjuangan jurusan peternakan angkatan 2012 .

Serta buat Almamater dan Merah Putih Tercinta.

*“ sungguh, manusia dalam kerugian”
“ kecuali orang-orang yang beriman dan mengerjakan kebajikan serta
saling menasehati untuk kebenaran dan saling menasihati untuk
kesabaran”
(Q.S Al Asr : 2-3)*

***Terkadang, menangis hanya membuat matamu setingkat
lebih jernih sebelum melihat kebahagiaan***

**Kekecewaan adalah cara Tuhan untuk mengatakan
Bersabarlah, Aku punya sesuatu yang lebih baik untukmu**

Hal yang paling sulit adalah mengalahkan diri sendiri.
Tetapi itu bisa kamu mulai dengan memaafkan diri sendiri

*Berusahalah kamu untuk kepentingan duniamu seolah-olah
kamu akan hidup selama-lamanya dan beribadahlah kamu
untuk kepentingan akhiratmu seolah olah kamu akan mati esok
hari*

(H. R Ibnu Askari)

SANWACANA

Bismillahirrohmanirrohim

Puji syukur penulis ucapkan atas kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini, melalui kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si. —selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung—atas izin untuk melaksanakan Praktik Umum;
2. Ibu Sri Suharyati, S.Pt., M.P. —selaku Ketua Jurusan Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Lampung, Pembimbing Akademik, dan Pembimbing Utama—atas bimbingan, saran, arahan, dan kesabaran selama masa perkuliahan dan menyelesaikan skripsi;
3. Bapak drh. Madi Hartono, M.P. – selaku Pembimbing Anggota – Atas kesabaran, bimbingan, dan arahan selama penyusunan skripsi;
4. Bapak Siswanto, S.Pt., M.Si. – selaku Penguji—atas saran dan masukannya dalam penulisan skripsi ini;
5. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Peternakan— Atas kesabaran, bimbingan, nasehat, arahan, dan ilmu yang telah diberikan;

6. Bapak Ir. Eko P. Widodo—selaku Kepala Balai Inseminasi Buatan Daerah Lampung atas izin, bantuan, dan fasilitas yang telah diberikan selama penelitian;
7. Bapak drh. Anwar, ibu Murtiawan, S.Pt., Bapak Ir. Joko, Bapak Pur, Bapak Sarimin, Mas Yasir, Mas Tri, dan Mas Agung; atas bimbingan dan sarannya selama pelaksanaan penelitian;
8. Ayahanda Sutrisno dan Ibunda Leginem yang sangat saya cintai – atas do'a, dorongan moril, nasehat, kasih sayang, kesabaran dan bantuan yang tidak henti-hentinya;
9. Kakanda Yamti, Sutarko, Kartuti, Suwarno, Naryo, dan Ria serta Adek Arjun Muzakki, Muhammad Afif Ayyasi, Afsar Nafis, dan Hikari Aufa Rafiki – yang selalu memberikan do'a, nasehat, dan dorongannya yang mengharapkan agar aku cepat menyelesaikan studiku;
10. Lukman Riyanto, A.Md –atas semangat, do'a, motivasi, kerjasama dan dukungannya;
11. Indah Iftinandari Munzir dan Sintha Pubiandara—selaku teman seperjuangan selama penelitian—atas kerjasama, persaudaraan, kasih sayang, semangat, dan dukungannya semoga tetap bertahan;
12. Hindun Larasati, Anita Sari, Ertha Colanda Sari, Novia Rahmawati, dan Dwinta Amalia—atas persaudaraan, dukungan, do'a, kasih sayang, canda tawa, dan kerjasamanya semoga tetap bertahan;
13. Saudara Peternakan 2012 (Fadhil, Ben, Salamun, Tino, Yogi, Hanan, Kun, One, Erma, Ulya, Rani, Yeni, Ambi, Miyan, Luthfi, Lisa, Dewi Nov, Ucup, Eli, Ines, Indah, Okni, Hesti, Marya, Pau, Disa, Riawan, Jaka,

Destama, Dina, dan Jaju – atas persaudaraan, dukungan, dan kerjasamanya;

14. Saudara seperjuangan kuliah kerja nyata periode 1 2016 (Rika, Aldhisa, Ririn, Lita, Eko, dan Virsa) – atas persaudaraan, canda tawa, dan kerjasamanya

Semoga segala kebaikan yang telah diberikan kepada penulis menjadi amal baik dan semoga Allah SWT membalas semua kebaikan yang telah diberikan dan semoga skripsi ini bermanfaat bagi kita semua. Amiin

Bandar Lampung, September 2016

Penulis,
Iis Nurlia

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR	vii
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang dan Masalah.....	1
B. Tujuan Penelitian.....	3
C. Kegunaan Penelitian.....	3
D. Kerangka Pemikiran.....	4
E. Hipotesis.....	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
A. Karakteristik Sapi Ongole.....	7
B. Semen.....	9
C. Metabolisme Spermatozoa.....	10
D. Pengencer Spermatozoa.....	11
E. Tris Kuning Telur.....	12
F. Rafinosa.....	13
G. Pemeriksaan Semen.....	15
1. Motilitas.....	17
2. Abnormalitas.....	19
3. Persentase spermatozoa hidup.....	20

III. BAHAN DAN METODE	22
A. Tempat dan Waktu Penelitian.....	22
B. Alat Dan Bahan Penelitian.....	22
C. Rancangan Percobaan.....	23
D. Analisis Data.....	23
E. Prosedur Penelitian.....	23
1. Penampungan semen.....	24
2. Evaluasi semen segar.....	25
3. Pengenceran semen.....	25
4. Ekuilibrasi.....	27
5. <i>Filling- sealing</i>	28
6. Proses <i>prefreezing</i>	28
7. Proses <i>freezing</i>	28
F. Peubah yang Diamati.....	29
1. Motilitas spermatozoa.....	29
2. Persentase hidup spermatozoa.....	29
3. Abnormalitas spermatozoa.....	30
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	31
A. Evaluasi Kualitas Semen Segar Sapi Ongole.....	31
B. Pengaruh Penambahan Berbagai Dosis Rafinosa Terhadap Kualitas Spermatozoa.....	35
1. Penilaian motilitas spermatozoa selama pembekuan.....	35
2. Penilaian persentase spermatozoa hidup selama pembekuan..	40
3. Penilaian persentase abnormalitas spermatozoa selama Pembekuan.....	46

V. SIMPULAN DAN SARAN	48
A. Simpulan.....	48
B. Saran.....	49

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi bahan pengencer.....	26
2. Hasil evaluasi semen segar sapi Ongole.....	31
3. Hasil rata-ran persentase motilitas spermatozoa sapi Ongole.....	36
4. Hasil rata-ran persentase spermatozoa hidup sapi Ongole.....	41
5. Hasil rata-ran persentase abnormalitas spermatozoa sapi Ongole.....	46
6. Persentase motilitas spermatozoa setelah ekuilibrasasi.....	55
7. Persentase motilitas spermatozoa setelah <i>prefreezing</i>	55
8. Persentase motilitas spermatozoa PTM.....	55
9. Persentase spermatozoa hidup setelah ekuilibrasasi.....	56
10. Persentase spermatozoa hidup setelah <i>prefreezing</i>	56
11. Persentase spermatozoa hidup PTM.....	56
12. Persentase abnormalitas spermatozoa setelah ekuilibrasasi.....	57
13. Persentase abnormalitas spermatozoa setelah <i>prefreezing</i>	57
14. Persentase abnormalitas spermatozoa PTM.....	57
15. Hasil analisis ragam motilitas spermatozoa setelah ekuilibrasasi.....	58
16. Hasil analisis ragam motilitas spermatozoa setelah <i>Prefreezing</i>	58
17. Hasil analisis ragam motilitas spermatozoa PTM.....	58

18. Hasil analisis ragam spermatozoa hidup setelah ekuilibrase.....	59
19. Hasil analisis ragam spermatozoa hidup setelah <i>Prefreezing</i>	59
20. Hasil analisis ragam spermatozoa hidup PTM.....	59
21. Hasil analisis ragam abnormalitas spermatozoa setelah ekuilibrase.....	60
22. Hasil analisis ragam abnormalitas spermatozoa setelah <i>prefreezing</i>	60
23. Hasil analisis ragam abnormalitas spermatozoa PTM.....	60
24. Hasil analisis sidik regresi motilitas spermatozoa setelah ekuilibrase.....	61
25. Hasil analisis sidik regresi spermatozoa hidup setelah ekuilibrase.....	61
26. Hasil analisis sidik regresi spermatozoa hidup setelah <i>prefreezing</i>	61

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Sapi Ongole.....	8
2. Struktur spermatozoa.....	9
3. Abnormalitas spermatozoa.....	20
4. Prosedur kerja.....	24
5. Tahapan pembuatan pengencer.....	27
6. Hubungan antara dosis rafinosa dengan persentase motilitas spermatozoa setelah ekuilibrasi.....	37
7. Hubungan antara dosis rafinosa dengan persentase spermatozoa hidup setelah ekuilibrasi.....	42
8. Hubungan antara dosis rafinosa dengan persentase spermatozoa hidup setelah <i>prefreezing</i>	44
9. Proses pembuatan pengencer tris kuning telur.....	62
10. Penampungan semen.....	62
11. Printing straw.....	63
12. Hidup dan mati spermatozoa.....	63

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang dan Masalah

Jumlah penduduk Indonesia serta kesadaran masyarakat tentang pentingnya makanan bergizi yang semakin meningkat menjadikan permintaan produk ternak khususnya kebutuhan daging sebagai sumber protein hewani meningkat. Namun yang terjadi di Indonesia, pertumbuhan produksi berbagai macam hasil peternakan belum dapat mengimbangi laju permintaan tersebut.

Inseminasi Buatan (IB) merupakan salah satu upaya pemanfaatan bibit pejantan unggul dalam rangka perbaikan mutu genetik ternak. Dengan pemanfaatan teknologi IB perkembangan dan peningkatan populasi ternak terutama sapi dapat lebih cepat karena dengan teknologi IB ini pemanfaatan bibit pejantan unggul akan lebih efisien dan penyerentakan betina untuk bunting akan lebih mudah dibandingkan kawin alami. Salah satu pejantan yang baik untuk dikembangkan adalah sapi Ongole.

Sapi Ongole adalah sapi yang berasal dari India dan merupakan ternak tertua di dunia yang dijinakkan di India. Karakteristik sapi Ongole adalah berbadan besar, berpuncuk besar, bergelambir longgar, dan berleher pendek. Kepala, leher, gelambir, dan lutut berwarna hitam, terutama sapi jantan.

Penggunaan teknik IB berkaitan erat dengan kualitas spermatozoa. Kualitas spermatozoa dipengaruhi oleh faktor internal (umur, bangsa dan genetik) maupun faktor eksternal (pakan, lingkungan dan pengencer yang digunakan). Fungsi pengencer adalah melindungi spermatozoa dari *cold shock*, menyediakan suatu penyanggah untuk mencegah perubahan pH, mempertahankan tekanan osmotik, mencegah pertumbuhan mikroorganisme, memperbanyak volume semen, dan menyediakan zat-zat makanan sebagai sumber energi bagi spermatozoa (Partodihardjo, 1992).

Salah satu bahan pengencer semen sapi adalah tris kuning telur yang memiliki keunggulan spermatozoa lebih cepat menyesuaikan diri dengan larutan pengencer ini, dapat mencegah perubahan pH, pada pengamatan menggunakan mikroskop terlihat bersih dan jernih tanpa butiran lemak.

Ketersediaan zat-zat makanan sebagai sumber energi bagi spermatozoa merupakan prasyarat untuk pengencer semen yang baik salah satunya dengan menambahkan karbohidrat. Karbohidrat memiliki beberapa fungsi, yaitu sebagai sumber energi bagi sperma selama inkubasi, memelihara tekanan osmotik cairan dan dapat bertindak sebagai krioprotektan. Penambahan karbohidrat ke dalam pengencer akan sangat berguna dan membantu bagi daya hidup spermatozoa (Salisbury dan Van Denmark, 1985). Beberapa jenis karbohidrat yang dapat digunakan dalam pengenceran semen seperti glukosa, fruktosa, sukrosa, laktosa, dan rafinosa.

Rafinosa merupakan suatu trisakarida yang penting, terdiri atas tiga molekul monosakarida yang berikatan yaitu galaktosa-glukosa-fruktosa. Penggunaan dosis

rafinosa dalam pengencer dapat menyediakan sumber energi lebih banyak bagi spermatozoa. Sampai saat ini informasi tentang penggunaan rafinosa dalam pengencer tris kuning telur masih sangat sedikit. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian terhadap penambahan dosis rafinosa yang optimum pada pengencer tris kuning telur pada semen beku sapi Ongole.

B. Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah

1. mengetahui pengaruh penambahan dosis rafinosa yang berbeda dalam bahan pengencer tris kuning telur terhadap motilitas, persentase hidup, dan abnormalitas spermatozoa sapi Ongole;
2. mengetahui dosis rafinosa optimum yang terdapat dalam pengencer tris kuning telur yang dapat mempertahankan motilitas, persentase hidup, dan abnormalitas spermatozoa semen beku sapi Ongole.

C. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada praktisi dan ilmuwan serta pihak-pihak balai inseminasi tentang pengaruh penambahan dosis rafinosa yang berbeda dalam pengencer tris kuning telur terhadap motilitas, persentase hidup, dan abnormalitas spermatozoa sapi Ongole sehingga dapat menghasilkan kualitas semen yang baik.

D. Kerangka Pemikiran

Semen adalah sekresi kelamin jantan dari epididimis serta kelenjar-kelenjar kelamin pelengkap (kelenjar vesikularis) yang terdiri dari spermatozoa dan plasma semen yang secara normal diejakulasi ke dalam saluran kelamin betina sewaktu kopulasi, tetapi dapat pula ditampung dengan berbagai cara untuk keperluan inseminasi buatan (Toelihere,1985). Spermatozoa adalah sel atau benih yang berasal dari sistem reproduksi jantan, sedangkan plasma adalah air mani yang digunakan oleh spermatozoa untuk tetap bergerak.

Salah satu jenis sapi yang mudah dikembangkan di Indonesia adalah sapi Ongole. Keunggulan sapi Ongole adalah bobot badan besar sehingga jumlah daging yang dihasilkan lebih besar, mampu bertahan pada suhu tinggi (40°C) dengan kondisi pakan yang berkualitas rendah, betina kawin pertama umur 18 bulan, dan jantan kawin pertama umur 30—36 bulan, tahan terhadap ekto dan endoparasit, dan bertemperamen tenang. Dengan pemanfaatan pejantan unggul sapi Ongole untuk diambil semennya dan dijadikan semen beku untuk disebarluaskan dalam program inseminasi buatan semakin efisien .

Inseminasi buatan adalah salah satu cara yang dapat dilakukan untuk mempercepat peningkatan populasi sapi. Keunggulan dari inseminasi buatan adalah meningkatkan angka kelahiran secara cepat dan teratur; menghemat biaya pemeliharaan ternak jantan; mencegah terjadinya kawin sedarah pada sapi betina (*inbreeding*); dengan peralatan dan teknologi yang baik spermatozoa dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama; semen beku masih dapat dipakai untuk beberapa tahun kemudian walaupun pejantan telah mati; menghindari kecelakaan

yang sering terjadi pada saat perkawinan karena fisik pejantan terlalu besar; menghindari ternak dari penularan penyakit terutama penyakit yang ditularkan dengan hubungan kelamin (Rahadi, 2008).

Untuk menghasilkan semen beku yang berkualitas dibutuhkan bahan pengencer yang mampu mempertahankan kualitas spermatozoa salah satunya adalah pengencer tris kuning telur. Pengencer tris kuning telur memiliki fungsi sebagai antibiotik, larutan isotonik, *buffer*, agen krioprotektan untuk menunjang kehidupan spermatozoa dalam produk semen beku, dan penyedia bahan sumber nutrisi dan sumber energi bagi spermatozoa.

Kekurangan sumber energi bagi spermatozoa dapat menurunkan kualitas semen beku. Spermatozoa selama proses pembuatan dan penyimpanan semen beku tetap memerlukan sumber energi untuk tetap bertahan hidup. Penggunaan satu jenis gugus gula dalam pengencer seperti fruktosa yang merupakan monosakarida tidak cukup untuk penyediaan energi bagi spermatozoa selama proses pembuatan dan penyimpanan semen beku, sehingga perlu adanya penambahan gugus gula yang dapat menyediakan lebih banyak sumber energi seperti rafinosa. Rafinosa adalah trisakarida yang merupakan gabungan dari galaktosa-glukosa-fruktosa yang dapat menyediakan lebih banyak sumber energi bagi spermatozoa. Menurut Rizal *et al.*, (2006) , penambahan dextrosa, rafinosa, trehalosa, atau sukrosa 0,4% di dalam pengencer tris efektif meningkatkan kualitas semen beku domba Garut. Menurut Balai Besar Inseminasi Buatan Singosari (2008), penambahan dosis rafinosa sebesar 2,5% dalam pengencer tris kuning telur berfungsi sebagai sumber energi spermatozoa.

Penggunaan rafinosa dengan dosis yang efektif dalam bahan pengencer akan menyediakan sumber energi yang cukup bagi spermatozoa. Oleh karena itu, memodifikasi penggunaan dosis rafinosa sebagai sumber energi dalam bahan pengencer dapat menyediakan nutrisi bagi spermatozoa dalam proses pembekuan. Berdasarkan hal-hal di atas dengan adanya penambahan dosis rafinosa 0,5 %; 1,0%; 1,5%; 2,0%; 2,5% dan 3,0% dalam pengencer tris kuning telur diharapkan mampu memberikan kualitas semen beku sapi Ongole yang baik. Dosis rafinosa yang optimum akan memberikan sumber energi untuk mencegah kematian spermatozoa dalam semen beku sehingga motilitas, persentase spermatozoa hidup, dan abnormalitas spermatozoa dapat dipertahankan.

E. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah

1. terdapat pengaruh penambahan dosis rafinosa yang berbeda dalam bahan pengencer tris kuning telur terhadap motilitas, persentase hidup, dan abnormalitas spermatozoa semen beku sapi Ongole;
2. terdapat dosis rafinosa optimum yang ditambahkan ke dalam pengencer tris kuning telur yang dapat mempertahankan motilitas, persentase hidup, dan abnormalitas spermatozoa semen semen beku sapi Ongole.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Karakteristik Sapi Ongole

Bangsa (*breed*) sapi adalah sekumpulan ternak yang memiliki karakteristik tertentu yang sama. Atas dasar karakteristik tersebut, ternak-ternak tersebut dapat dibedakan dengan ternak lainnya meskipun masih dalam jenis hewan (*species*) yang sama. Karakteristik yang dimiliki dapat diturunkan ke generasi berikutnya. Menurut Blakely dan Bade (1992), sapi Ongole mempunyai klasifikasi taksonomi sebagai berikut :

<i>Phylum</i>	: <i>Chordata</i>
<i>Subphylum</i>	: <i>Vertebrata</i>
<i>Class</i>	: <i>Mamalia</i>
<i>Sub class</i>	: <i>Eutheria</i>
<i>Ordo</i>	: <i>Artiodactyla</i>
<i>Sub ordo</i>	: <i>Ruminantia</i>
<i>Infra ordo</i>	: <i>Pecora</i>
<i>Famili</i>	: <i>Bovidae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Bos (cattle)</i>
<i>Spesies</i>	: <i>Bos Indicus</i>

Menurut Burhan (2003), morfologi dan ciri-ciri sapi Ongole memiliki warna tubuh putih sedikit keabuan, terdapat gelambir dari rahang bawah hingga ujung

dada depan, badan besar, panjang, dan berpuncuk di atas bahu, kepala panjang, telinga kecil dan tegak, paha besar, kulit tebal dan lepas, temperamen tenang dengan mata besar, tanduk pendek dan hampir tidak terlihat.

Keunggulan dari sapi Ongole adalah memiliki bobot badan besar sehingga jumlah daging yang dihasilkan lebih besar, mampu bertahan pada suhu tinggi (40°C), pertumbuhan relatif cepat walaupun adaptasi terhadap pakan yang berkualitas rendah, betina kawin pertama umur 18 bulan, beranak pertama umur 30 bulan, jantan kawin pertama umur 30—36 bulan, persentase karkas dan kualitas daging baik, tahan terhadap ekto dan endoparasit, bertemperamen tenang, pertumbuhan yang relatif cepat dengan presentase karkas yang baik, tinggi sapi jantan dapat mencapai bobot badan 600—750 kg, sedangkan betina dewasa dapat mencapai bobot badan 450—600 kg, penambahan bobot badan harian dapat mencapai 0,75 kg, dan persentase karkas sekitar 58% (Siregar, 2008).

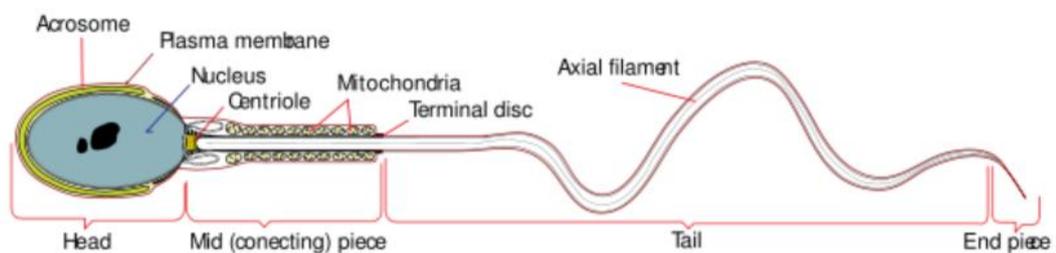


Gambar 1. Sapi Ongole

B. Semen

Semen adalah sekresi kelamin jantan dari epididimis serta kelenjar-kelenjar kelamin pelengkap (kelenjar vesikularis) yang terdiri dari spermatozoa dan plasma semen yang secara normal diejakulasi ke dalam saluran kelamin betina sewaktu kopulasi, tetapi dapat pula ditampung dengan berbagai cara untuk keperluan inseminasi buatan (Toelihere, 1985). Spermatozoa adalah sel atau benih yang berasal dari sistem reproduksi jantan, sedangkan plasma adalah air mani yang digunakan oleh spermatozoa untuk tetap bergerak.

Menurut Kristanto (2004), plasma semen berfungsi sebagai media transportasi spermatozoa dari alat kelamin jantan menuju kelamin betina dan sebagai bahan penyangga serta mengandung medium yang kaya nutrisi yang berperan membantu spermatozoa tetap hidup di luar tubuh setelah dikeluarkan atau diejakulasikan.



Gambar 2. Struktur spermatozoa (Ladyofhats dan Rozzychan, 2007)

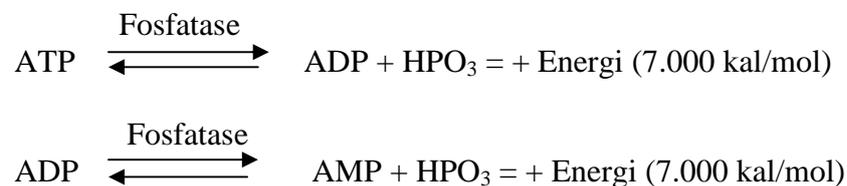
Spermatozoa terdiri dari tiga bagian yaitu kepala, bagian tengah, dan ekor. Di dalam bagian kepala terdiri dari lapisan pelindung akrosom dan membran plasma, untuk bagian dalam terdiri dari inti sel yang mengandung materi genetik (DNA). Garner dan Hafez (2000) menyatakan bahwa spermatozoa normal terdiri dari

kepala dan ekor, kepala berbentuk oval memanjang lebar dan datar, berisi materi inti dan kromosom DNA yang bersenyawa protein untuk membawa informasi genetik.

C. Metabolisme Spermatozoa

Proses metabolisme spermatozoa terjadi di dalam mitokondria. Proses metabolisme berjalan karena adanya proses respirasi sel. Kegiatan metabolisme sel membutuhkan adanya energi sebagai bahan- bahan proses metabolisme. Kebutuhan energi sel spermatozoa diperoleh dari sumber cairan semen. Menurut Kristanto (2004), cairan semen mengandung empat substrat yang digunakan sebagai bahan energi, yaitu fruktosa, sorbitol, gliseryl phosphoryl choline (GPC) dan plasmlogen. Substrat-substrat tersebut akan bereaksi dan menghasilkan energi yang berasal dari perombakan adenosin triphosphat (ATP) di dalam selubung mitokondria melalui reaksi penguraian menjadi adenosin diphosphat (ADP) dan adenosin monophosphat (AMP).

Garner dan Hafez (2000) menyatakan hasil pembentukan ADP akan menghasilkan energi 7.000 mol/ kalori. Reaksi digambarkan dalam proses berikut



Proses perombakan fruktosa menjadi energi dapat terjadi tanpa atau adanya oksigen. Proses perombakan fruktosa menjadi energi tanpa oksigen (anaerob) melalui tahapan jalur Embden-Meyerhof dan dengan adanya oksigen (aerob) melalui jalur Siklus Krebs.

Energi yang dihasilkan dari hasil metabolisme akan digunakan sebagai energi mekanik. Energi yang dihasilkan digunakan sebagai energi gerak, metabolisme, dan untuk kehidupan sel spermatozoa. Bearden dan Fuquay (1984) menyatakan bahwa proses metabolisme dipengaruhi oleh suhu. Semakin rendah suhu lingkungan maka proses metabolisme akan berjalan lambat, sedangkan pada suhu yang tinggi proses metabolisme akan berjalan dengan cepat. Selama proses pembekuan sel spermatozoa akan mengalami penghentian hampir seluruh aktivitas metabolisme sel karena pengaruh suhu lingkungan yang menjadi dingin. Pada proses penyimpanan tersebut reaksi metabolisme akan terjadi secara anaerob tetapi energi yang dihasilkan akan menjaga daya tahan sel spermatozoa.

D. Pengencer Spermatozoa

Menurut Aboagla dan Terada (2004), untuk menghasilkan semen beku yang berkualitas tinggi dibutuhkan bahan pengencer semen yang mampu mempertahankan kualitas spermatozoa selama proses pendinginan, pembekuan, maupun pada saat *thawing*. Bahan pengencer harus mengandung sumber nutrisi, *buffer*, bahan anti *cold shock*, antibiotik dan krioprotektan yang dapat melindungi spermatozoa selama proses pembekuan dan *thawing*. Menurut Toelihere (1993), sumber nutrisi yang paling banyak digunakan adalah karbohidrat terutama fruktosa karena paling mudah dimetabolisasi oleh spermatozoa. *Buffer* berfungsi sebagai pengatur tekanan osmotik dan juga berfungsi menetralkan asam laktat yang dihasilkan dari sisa metabolisme spermatozoa. Steinbach dan Foote (1967) menyatakan bahwa *buffer* yang umum digunakan adalah tris (*hydroxymethyl*) aminomethane yang mempunyai kemampuan sebagai penyangga yang baik

dengan toksisitas yang rendah dalam konsentrasi yang tinggi. Menurut Aboagla dan Terada (2004), bahan anti *cold shock* yang umum ditambahkan adalah kuning telur, yang dapat melindungi spermatozoa pada saat perubahan suhu dari suhu ruang (28°C) pada saat pengolahan ke suhu ekuilibraasi (5°C).

E. Tris Kuning Telur

Bahan pengencer Tris Kuning Telur terdiri dari Tris aminomethane, asam sitrat monohidrat, kristal glukosa, kuning telur, penicillin, streptomycin dan aquabidestilata. Tris aminomethane berfungsi sebagai *buffer* dan mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit. Kuning telur berfungsi melindungi spermatozoa terhadap *cold shock* dan sebagai sumber energi (Partodihardjo, 1992).

Kuning telur memiliki komposisi gizi yang lebih lengkap dibanding putih telur. 30% dari berat telur adalah kuning telur. Komposisi kuning telur terdiri dari air, protein, lemak, karbohidrat, mineral dan vitamin (Sarwono, 1995). Protein telur termasuk sempurna karena mengandung semua jenis asam amino esensial dalam jumlah yang cukup seimbang (Haryanto, 1996). Kuning telur mengandung lipoprotein dan lechitin yang mempertahankan dan melindungi integritas dan selubung lipoprotein dari sel spermatozoa dan mencegah *cold shock* (Toelihere, 1985). Daya guna telur ayam sebagai pengencer semen sangat berharga dan pada dewasa ini penggunaannya meluas ke seluruh dunia (Hafez, 1987).

F. Rafinosa

Rafinosa adalah trisakarida yang merupakan gabungan dari galaktosa-glukosa-fruktosa yang dapat menyediakan lebih banyak sumber energi bagi spermatozoa. Menurut Rizal *et al.*, (2006), penambahan dextrosa, rafinosa, trehalosa, atau sukrosa 0,4% di dalam pengencer tris efektif meningkatkan kualitas semen beku domba Garut. Menurut Balai Besar Inseminasi Buatan Singosari (2008), penambahan dosis rafinosa sebesar 2,5% dalam pengencer tris kuning telur berfungsi sebagai sumber energi dan krioprotektan.

Menurut Savitri *et al.*, (2014), trehalosa dan rafinosa yang ditambahkan ke dalam pengencer akan berasosiasi dengan karbohidrat yang ada pada selubung sel sehingga membran plasma dapat terlindungi dari kerusakan secara mekanik selama proses pengolahan semen berlangsung, terutama saat penyimpanan pada suhu rendah. Apabila karbohidrat yang ada pada membran plasma sel tersebut rusak selama proses preservasi, diharapkan trehalosa dan rafinosa yang ditambahkan dapat menjadi pengganti sehingga struktur selubung sel tetap utuh. Trehalosa dan rafinosa dapat melindungi membran plasma spermatozoa dari pengaruh kejutan dingin selama penyimpanan pada suhu rendah (5°C).

Menurut Rizal *et al.*, (2006), adanya perbaikan kualitas semen beku dengan penambahan berbagai jenis gula seperti rafinosa di dalam pengencer menjadi indikator bahwa gula-gula tersebut efektif melindungi spermatozoa dari kerusakan selama proses kriopreservasi semen. Gula yang ditambahkan berfungsi sebagai substrat sumber energi dan sekaligus sebagai krioprotektan ekstraseluler. Sebagai substrat sumber energi, gula tersebut akan dimetabolisir melalui jalur glikolisis

atau dilanjutkan dengan reaksi asam trikarboksilat (siklus Krebs), sehingga dihasilkan energi berupa ATP yang akan dimanfaatkan oleh spermatozoa dalam pergerakan (motilitas). Sebagai krioprotektan ekstraseluler, gula akan melindungi membran plasma sel spermatozoa dari kerusakan secara mekanik yang terjadi saat proses kriopreservasi semen. Hal ini ditandai dengan lebih tingginya nilai persentase membran plasma utuh (MPU) semen beku perlakuan penambahan gula dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Menurut Salamon dan Maxwell (2000), gula dalam keadaan beku berbentuk seperti kaca (*glass*) yang tidak tajam, sehingga tidak merusak sel spermatozoa secara mekanik. Gula dapat melindungi membran plasma sel spermatozoa karena pada bagian luar membran plasma sel terdapat karbohidrat yang berikatan dengan lipid (glikolipid) atau protein (glikoprotein) yang disebut selubung sel atau glikokaliks (Subowo, 1995).

Krystalia (2013) menyatakan bahwa rafinosa adalah suatu trisakarida yang penting, terdiri atas tiga molekul monosakarida yang berikatan, yaitu fruktosa-glukosa-galaktosa. Setelah dihidrolisi sempurna, gugus gula yang pertama digunakan oleh spermatozoa adalah fruktosa. Fruktosa dalam sel difosforilasi oleh heksokinase atau fruktokinase yang akhirnya menjadi fruktosa 1 fosfat. Lalu akan dipecah menjadi DHAP (dihidroksiasetonfosfat) dan gliseraldehid oleh aldolase B. DHAP dapat secara langsung masuk ke glikolisis dan glukoneogenesis di dalam sel.

Metabolisme glukosa di dalam sel yaitu glukosa mengalami fosforilasi oleh suatu heksokinase menjadi glukosa 6-fosfat. Glukosa 6-fosfat kemudian dapat masuk ke sejumlah jalur metabolik. Tiga jalur yang biasa terdapat pada semua jenis sel

adalah glikolisis, jalur pentosa fosfat, dan sintesis glikogen. Di dalam jaringan, fruktosa dan gataktosa diubah menjadi zat antara metabolisme glukosa. Dengan demikian, nasib gula-gula ini sejajar dengan nasib yang dialami oleh glukosa. Metabolisme utama glukosa 6-fosfat adalah oksidasi melalui jalur glikolisis, yang merupakan sumber ATP untuk semua jenis sel. Sel yang tidak memiliki mitokondria tidak dapat mengoksidasi bahan bakar lain. Sel tersebut menghasilkan ATP dari glikolisis anaerobik (perubahan glukosa menjadi laktat). Sel yang memiliki mitokondria mengoksidasi glukosa menjadi CO_2 dan H_2O melalui glikolisis dan siklus asam trikarboksilat (Krystalia, 2013).

Metabolisme galaktosa menggunakan enzim galaktokinase yang mengkatalisis dalam glikolisis dan dalam reaksi ini diperlukan ATP sebagai donor fosfat. Galaktosa 1-fosfat yang terbentuk akan bereaksi dengan uridin difosfat glukosa (UDPG) dan menghasilkan uridin difosfat galaktosa dan glukosa 1-fosfat. Reaksi ini dikatalisis enzim galaktosa 1-fosfat uridil transferase, galaktosa menggantikan tempat glukosa. Perubahan galaktosa menjadi glukosa ini terjadi pada suatu nukleotida yang mengandung galaktosa, peristiwa oksidasi-reduksi berlangsung dan memerlukan NAD^+ sebagai ko-enzim. UDP-glukosa yang dihasilkan dibebaskan dalam bentuk glukosa 1-fosfat sebelum UDP-glukosa yang dihasilkan dibebaskan digabung dulu dengan molekul glikogen, baru kemudian dipecah oleh enzim fosforilase (Krystalia, 2013).

G. Pemeriksaan Semen

Menurut Toelihere (1993), pemeriksaan dan evaluasi harus meliputi keadaan umum contoh semen, volume, konsentrasinya dan motilitas atau daya gerak.

Observasi ini perlu untuk penentuan kualitas semen dan daya reproduksi pejantan dan lebih khusus lagi, untuk menentukan kadar pengenceran semen. Pemeriksaan lebih lanjut meliputi perhitungan jumlah sel-sel abnormal, pewarnaan diferensial untuk menentukan sperma yang hidup dan yang mati, penentuan metabolisme spermatozoa, dan penentuan resistensi sel-sel sperma terhadap kondisi-kondisi merugikan.

Volume semen yang tertampung dapat langsung terbaca pada tabung penampung yang berskala. Toelihere (1993) menyatakan bahwa volume semen sapi antara 5—8 ml. Menurut Aereus *et al.*, (2004), volume semen bervariasi antara 1—12 ml tiap ejakulasi untuk sapi yang masih muda dan untuk sapi yang telah dewasa dapat menghasilkan semen tiap ejakulat 10—15 ml.

Semen sapi normal berwarna seperti susu atau kream keputih-putihan dan keruh. Derajat kekeruhannya tergantung pada konsentrasi sperma. Kira-kira 10% sapi-sapi jantan menghasilkan semen yang normal berwarna kekuning-kuningan; warna ini disebabkan oleh pigmen riboflavin yang dibawakan oleh satu gen autosomal resesif dan tidak mempunyai pengaruh terhadap fertilitas (Toelihere, 1993).

Kisaran pH semen menurut Toelihere (1993) yaitu antara 6,2—7,5. pH dapat dilihat dengan mencocokkan warna dari kertas lakmus yang telah ditetesi semen dengan warna pada tabung kemasan kertas lakmus.

1. Motilitas

a. Gerakan massa

Menurut Salisbury dan Van Denmark (1985), sesuai dengan bentuk morfologi spermatozoa dan pola metaboliknya yang khusus dengan dasar produksi energi spermatozoa hidup dapat mendorong dirinya sendiri maju ke depan di dalam lingkungan zat cair. Motilitas telah sejak lama dikenal sebagai alat untuk memindahkan spermatozoa melalui saluran reproduksi hewan betina. Transport kilat spermatozoa dari serviks ke infundibulum terjadi secara otomatis (meski pada spermatozoa tidak motil) karena rangsangan oxytocin, terhadap konsentrasi saluran reproduksi.

Motilitas spermatozoa di dalam infundibulum bertugas sebagai alat penyebaran spermatozoa secara acak ke seluruh daerah saluran kelamin betina, untuk membuahi ovum jadi menjamin kepastian secara statik pertemuan spermatozoa dengan ovum. Faktor-faktor yang mempengaruhi motilitas spermatozoa adalah umur sperma, maturasi (pematangan) sperma, penyimpanan energi ATP (Adenosin Triphosphat), agen aktif, biofisik dan fisiologik, cairan suspensi dan adanya rangsangan hambatan (Hafez, 2000). Berdasarkan penilaian gerakan massa, kualitas semen dapat ditentukan sebagai berikut:

- sangat baik (+++), terlihat gelombang-gelombang besar, banyak, gelap, tebal dan aktif bagaikan gumpalan awan hitam saat akan turun hujan yang bergerak cepat berpindah-pindah tempat;
- baik (++), bila terlihat gelombang-gelombang kecil, tipis, jarang, kurang jelas dan bergerak lamban;

- cukup (+), jika terlihat gelombang melainkan hanya gerakan-gerakan individual aktif progresif;
- buruk (N, necrospermia atau 0), bila hanya sedikit atau tidak ada gerakangerakan individual.

b. Gerakan individu

Dibawah pembesaran pandangan 10x40 pada selapis tipis semen di atas gelas objek yang ditutupi gelas penutup akan terlihat gerakan-gerakan individual spermatozoa. Pada umumnya dan yang terbaik adalah pergerakan progresif atau gerakan aktif maju ke depan. Gerakan melingkar dan gerakan mundur sering merupakan tanda-tanda *cold shock* atau media yang tidak isotonik dengan semen. Gerakan berayun atau berputar di tempat sering terlihat pada semen yang tua, apabila kebanyakan spermatozoa telah berhenti bergerak maka dianggap mati (Feradis, 2010). Penilaian gerakan individual spermatozoa mempunyai nilai 0 sampai 5, sebagai berikut:

- 0 : spermatozoa immotil atau tidak bergerak;
- 1 : pergerakan berputar di tempat;
- 2 : gerakan berayun melingkar, kurang dari 50% bergerak progresif dan tidak ada gelombang;
- 3 : antara 50 sampai 80% spermatozoa bergerak progresif dan menghasilkan gerakan massa;
- 4 : pergerakan progresif yang gesit dan segera membentuk gelombang dengan 90% sperma motil;
- 5 : gerakan yang sangat progresif, gelombang yang sangat cepat, menunjukkan 100% motil aktif (Toelihere, 1993).

Penilaian gerakan individu yang terlihat pada mikroskop juga dapat dilihat dengan standar dibawah ini:

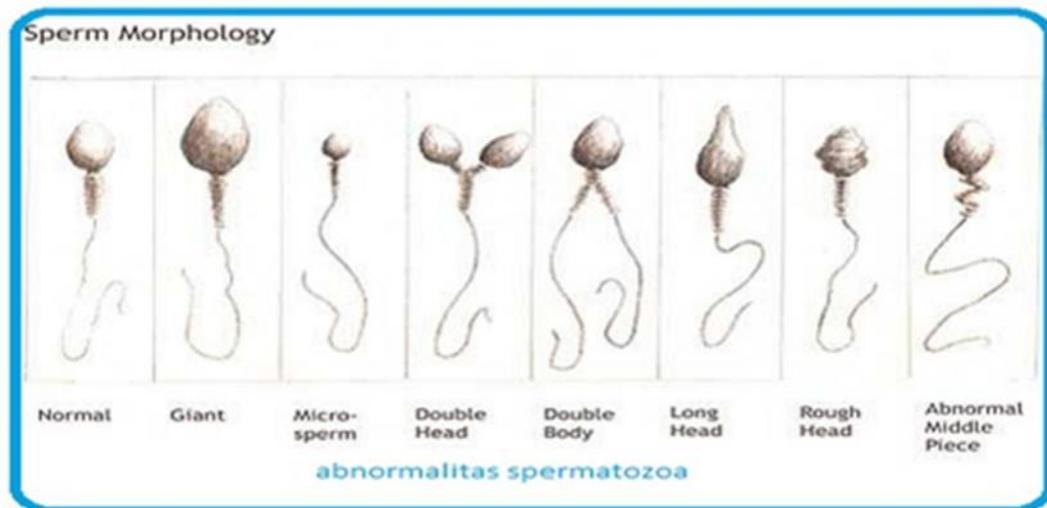
- 0 % : spermatozoa tidak bergerak;
 - 0—30 % : gerakan berputar ditempat; pergerakan progresif;
 - 30—50 % : gerakan berayun atau melingkar; pergerakan progresif;
 - 50—80 % : ada gerakan massa; pergerakan progresif;
 - 80—90 % : ada gelombang; pergerakan progresif;
 - 90—100 % : gelombang sangat cepat; pergerakan sangat progresif,
- (Toelihere, 1985).

2. Abnormalitas

Menurut Toelihere (1985), abnormalitas sperma diklasifikasikan dalam abnormalitas primer dan sekunder. Abnormalitas primer meliputi kepala yang terlampau besar (*macrocephalic*), kepala terlampau kecil (*microcephalic*), kepala pendek melebar, pipih memanjang dan piriformis; kepala rangkap, ekor ganda; bagian tengah melipat, membengkok, membesar, piriformis; atau bertaut abaxial pada pangkal kepala; dan ekor melingkar, putus atau terbelah. Abnormalitas sekunder termasuk ekor yang putus, kepala tanpa ekor, bagian tengah yang melipat, adanya butiran-butiran protoplasma proksimal atau distal dan akrosom yang terlepas.

Setiap spermatozoa yang abnormal tidak dapat membuahi sel telur, tanpa memandang apakah abnormalitas tersebut terjadi di dalam tubuli seminiferi, dalam epididimis atau oleh perlakuan yang tidak legeartis terhadap ejakulat.

Selama abnormalitas spermatozoa belum mencapai 20% dari contoh semen, maka semen tersebut masih dapat dipakai untuk inseminasi (Toelihere, 1993).



Gambar 3. Abnormalitas spermatozoa

3. Persentase hidup

Sperma yang hidup dapat diketahui dengan pengecatan atau pewarnaan dengan menggunakan eosin. Eosin dapat dibuat dari serbuk eosin yang dilarutkan dalam aquadest dengan konsentrasi 1 : 9. Sperma ditetesi dengan larutan eosin dan diratakan, kemudian di angin-anginkan atau di fiksasi dengan menggunakan spiritus, setelah itu dilihat di bawah mikroskop. Sperma yang tercat atau berwarna merah berarti sperma itu mati, sedangkan yang tidak terwarnai atau tidak tercat berarti sperma itu hidup (Mulyono, 1998).

Perbedaan afinitas zat warna antara sel-sel sperma yang mati dan yang hidup digunakan untuk melindungi jumlah sperma hidup secara objektif pada waktu semen segar dicampur dengan zat warna (eosin 2%). Sel-sel sperma yang hidup

tidak atau sedikit sekali menghisap warna sedangkan yang mati akan mengambil warna karena permeabilitas dinding meningkat sewaktu mati. Tujuan pewarnaan diferensial adalah untuk mengetahui persentase sel-sel sperma yang mati dan yang hidup (Hafez, 1987).

Menurut Hafez (2000), persentase hidup semen sapi segar sebesar 60—80%.

Toelihere (1993) menyatakan bahwa semen yang baik memiliki persentase viabilitas diatas 50%. Menurut Bearden dan Fuquay (1984), persentase spermatozoa hidup akan selalu lebih tinggi daripada motilitas spermatozoa.

III. BAHAN DAN METODE

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 16—18 Mei 2016 yang bertempat di Laboratorium Unit Pelayanan Teknis Daerah Balai Inseminasi Buatan Daerah (UPTD-BIBD) Lampung Tengah. Penelitian ini menggunakan semen dari seekor sapi Ongole milik Unit Pelayanan Teknis Daerah Balai Inseminasi Buatan Daerah (UPTD-BIBD) Lampung Tengah.

B. Alat dan Bahan Penelitian

Peralatan yang digunakan adalah vagina buatan, tabung penampung berskala dengan ketelitian 0,1 ml, labu didih dan penangas, timbangan digital dengan merk *Cook master electronic kitchen scale* No: GP KS043 dengan ketelitian 0,01 g, termometer, spatula, corong, gelas ukur pyrex, kertas label, kertas *whatman*, *waterbath*, *object* dan *cover glass*, spektrofotometer minitube, *micropipet* dengan ketelitian 0,1 ml, *beaker glass*, tabung erlenmeyer, *cooltop*, mesin *filling and sealing*, pH meter, boks untuk *prefreezing* dan *freezing*, mikroskop, tisu, *counter number*, stopwatch, dan kontainer, serta alat tulis.

Bahan yang digunakan adalah semen segar sapi Ongole, zat pewarna (eosin 2%), NaCl fisiologi, NaCl 3%, air hangat untuk proses *thawing*, bahan pengencer yang

terdiri dari tris aminomethan, kuning telur, fruktosa, rafinosa, asam sitrat, antibiotik (penisilin dan streptomisin), gliserol, aquabidest, dan nitrogen cair.

C. Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan pada penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 kali perlakuan dengan 4 kali pengulangan. Perlakuan yang dicobakan adalah konsentrasi rafinosa sebagai berikut

R1 : penambahan rafinosa 0,5% dalam bahan pengencer.

R2 : penambahan rafinosa 1,0 % dalam bahan pengencer.

R3 : penambahan rafinosa 1,5% dalam bahan pengencer.

R4 : penambahan rafinosa 2,0% dalam bahan pengencer.

R5 : penambahan rafinosa 2,5% dalam bahan pengencer.

R6 : penambahan rafinosa 3,0% dalam bahan pengencer.

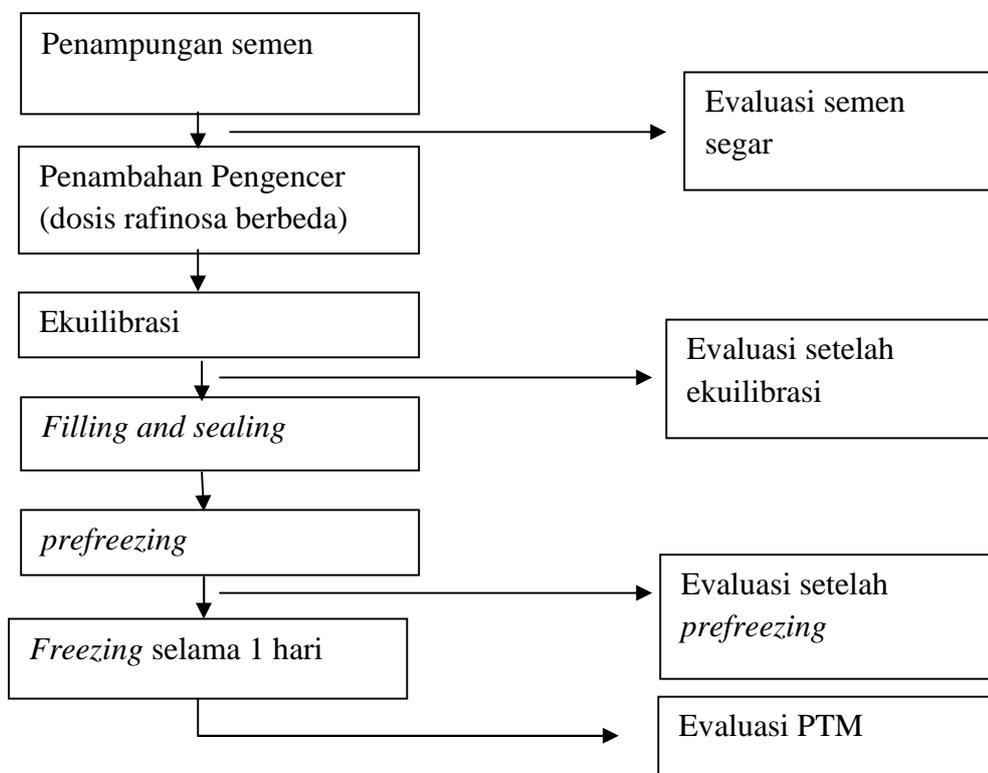
D. Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis ragam pada taraf nyata 5% dan atau 1% dan dilanjutkan dengan uji Polinomial Ortogonal untuk perlakuan yang berpengaruh nyata (Steel dan Torrie, 1993).

E. Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian ini terbagi dalam beberapa tahap kegiatan yaitu proses koleksi atau penampungan semen, evaluasi semen segar, proses penambahan pengenceran dengan dosis rafinosa yang berbeda, ekuilibrase (diikuti evaluasi

semen), *filling dan sealing*, *prefreezing* (diikuti evaluasi semen), *freezing*, dan evaluasi PTM. Prosedur penelitian ini digambarkan pada Gambar 4.



Gambar 4 . Prosedur kerja

1. Penampungan semen

Penampungan semen diawali dengan persiapan tempat penampungan, persiapan *bull teaser*, persiapan vagina buatan, dan persiapan pejantan yang akan dikoleksi semennya. Pejantan yang akan dikoleksi harus sudah diberi pakan dan dimandikan agar semen yang dihasilkan lebih optimal dan tidak terkontaminasi oleh kotoran yang ada dibadan sapi. Semen pejantan ditampung setelah pejantan melakukan *false moulting* 2—3 kali dan sudah mengeluarkan cairan aksesori, penis berwarna merah, dan keras.

2. Evaluasi semen segar

Evaluasi semen dilakukan untuk mengetahui kualitas semen sehingga layak atau tidak untuk dilakukan proses selanjutnya. Evaluasi semen meliputi pemeriksaan makroskopis, mikroskopis, dan konsentrasi. Pemeriksaan makroskopis meliputi volume, warna, bau, konsistensi, dan pH sedangkan pemeriksaan mikroskopis meliputi gerakan massa, motilitas minimal 70%, abnormalitas kurang dari 20%, dan persentase hidup 60—80% (BBIB Singosari, 2008).

3. Pengenceran semen

Pengenceran semen dilakukan dengan pengencer tris kuning telur. Bahan tris kuning telur terdiri dari kuning telur, asam sitrat, fruktosa, rafinosa (dengan dosis yang berbeda), penisilin, streptomisin, aquabides, dan gliserol. Komposisi bahan pengencer tris kuning telur yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 1. Volume bahan pengencer dihitung dengan rumus sebagai berikut

$$\Sigma \text{ pengencer} = \frac{\text{Vol. semen} \times \% \text{ Motil} \times \text{Konsentrasi}}{25 \text{ juta}} \times \text{dosis IB} - \text{vol. semen}$$

(BIBD Lampung Tengah, 2012).

Cara membuat bahan pengencer tris kuning telur dengan dosis rafinosa yang berbeda :

- a. menimbang bahan-bahan berupa tris aminomethan, asam sitrat, fruktosa, dan rafinosa;
- b. memasukkan bahan-bahan yang terdiri dari 1,56 gr tris aminomethane, 0,88 gr asam sitrat, dan 2,5 gr fruktosa ke dalam tabung Erlenmeyer dan menambahkan aquadest sebanyak 80 ml kemudian mencampur hingga homogen;

- c. setelah homogen, kemudian merendam erlenmeyer tersebut ke dalam mangkok yang telah terisi air mendidih dengan tujuan untuk sterilisasi;
- d. menurunkan suhunya dari 100°C ke suhu 32°C;
- e. memasukkan kuning telur 20 ml, mengaduk hingga homogen;
- f. memasukkan dalam refrigerator dan setelah 1 hari memisahkan antara endapan dan supernatan, serta yang digunakan hanya supernatannya sedangkan endapan dibuang;
- g. menambahkan gliserol 6 ml, penicillin 0,3 ml dan streptomycin 1 ml kemudian mengaduk sampai homogen;
- h. membagi pengencer tris kuning telur yang telah dibuat dengan volume sama banyak 10 ml pada tiap bagian, kemudian menambahkan rafinosa dengan masing-masing dosis 0,5%; 1,0%; 1,5%; 2,0%; 2,5% dan 3,0%.
(BIBD Lampung Tengah, 2012).

Tabel 1. Komposisi bahan pengencer

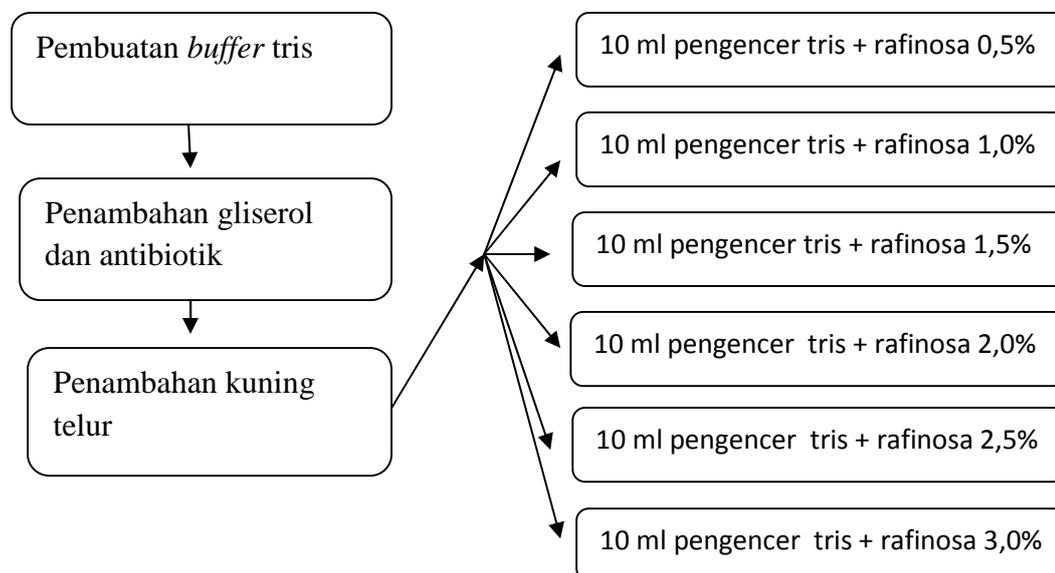
Bahan	Perlakuan					
	R1	R2	R3	R4	R5	R6
<i>Tris Aminomethan</i> (g)	1,56	1,56	1,56	1,56	1,56	1,56
<i>Citric Acid</i> (g)	0,88	0,56	0,56	0,56	0,56	0,56
Fruktosa (g)	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Rafinosa (g)	0,5	1	1,5	2	2,5	3
Penisillin (ml)	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Streptomisin (ml)	1	1	1	1	1	1
Kuning telur (ml)	20	20	20	20	20	20
Aquabides (ml)	80	80	80	80	80	80

(BIBD Lampung Tengah, 2012)

Keterangan : R1= dosis rafinosa 0,5%; R2= dosis rafinosa 1,0%; R3= dosis rafinosa 1,5%; R4=dosis rafinosa 2,0%; R5= dosis rafinosa 2,5%; R6= dosis rafinosa 3,0%

Secara singkat proses pembuatan pengencer tris kuning telur terdapat pada

Gambar 5



Gambar 5. Tahapan pembuatan pengencer

4. Ekuilibrase

Proses ekuilibrase dilakukan setelah semen dicampur dengan bahan pengencer.

Ekuilibrase dilakukan selama 4 jam di dalam *cooltop*. Waktu ekuilibrase adalah

waktu yang diperlukan spermatozoa sebelum pembekuan untuk menyesuaikan diri

dengan pengencer supaya sewaktu pembekuan kematian sperma yang berlebihan

dapat dicegah. Semen harus berada di dalam pengencer dengan atau tanpa

gliserol selama kurang lebih 4 jam pada suhu 5°C (Toelihere, 1985). Evaluasi

post ekuilibrase meliputi motilitas, persentase spermatozoa hidup, dan

abnormalitas spermatozoa.

5. *Filling-sealing*

Filling sealing adalah suatu proses pengisian semen yang telah ditambahkan bahan pengencer ke dalam *straw* dengan menggunakan mesin *filling-sealing*. Semen dikemas di dalam mesin *cool top* dengan suhu 5—6°C secara otomatis dan diisi ke dalam *straw* yang berisi 0,25 ml semen dengan konsentrasi sperma 25×10^6 sel/dosis (BIBD Lampung Tengah, 2012).

6. Proses *prefreezing*

Proses *prefreezing* semen dilakukan dengan cara meletakkan *straw* ke dalam boks di atas uap nitrogen selama 9 menit pada kisaran suhu mencapai -140°C. Boks yang digunakan untuk proses *prefreezing* diisi dengan nitrogen cair dengan batas ketinggian 10 cm. Jarak permukaan nitrogen cair dalam boks dengan *straw* 6 cm. Proses *prefreezing* dilakukan dalam kondisi tertutup dengan tujuan untuk mengurangi proses penguapan nitrogen cair di dalam boks (BIBD Lampung Tengah, 2012). Evaluasi *prefreezing* merupakan pengujian kualitas semen untuk mengetahui motilitas, spermatozoa hidup, dan abnormalitas spermatozoa.

7. Proses *freezing*

Freezing atau pembekuan adalah suatu proses sperma setelah mengalami proses ekuilibrase dan dimasukkan ke dalam kontainer berisi nitrogen cair bersuhu -196°C. *Straw* yang telah berisi semen beku dimasukkan ke dalam goblet dan dalam kanister (Toilehere, 1985). Kualitas semen setelah proses *freezing* dapat diketahui dengan melakukan evaluasi PTM.

Menurut SNI 4869. 1 (2008), semen beku sesudah dicairkan kembali (*post thawing*) pada suhu antara 37°C dan 38°C selama 15 detik sampai dengan 30 detik harus menunjukkan motilitas spermatozoa minimal 40% dan derajat gerakan individu spermatozoa minimal 2 (dua). Evaluasi PTM ini memeriksa motilitas, persentase hidup, dan abnormalitas spermatozoa.

F. Peubah yang Diamati

1. Motilitas spermatozoa

Motilitas atau daya gerak spermatozoa dapat dilakukan dengan pemeriksaan gerakan massa dan gerakan-gerakan individual sperma dibawah mikroskop. Standar penilaian gerakan individu yang terlihat di bawah mikroskop adalah 0—100%.

2. Persentase spermatozoa hidup

Persentase spermatozoa hidup dapat dilihat dengan cara membuat preparat ulas menggunakan pengecatan eosin sebesar 2%. Pada gelas obyek larutan eosin ditetaskan kemudian dicampur dengan satu tetes semen hingga homogen. Setelah itu dibuat menjadi preparat ulas tipis dengan cara menempelkan ujung kaca penutup pada kedua cairan sehingga cairan tersebut tercampur homogen. Setelah itu dorong gelas penutup ke ujung gelas obyek sehingga terbentuk lapisan tipis dan keringkan menggunakan pengering, kemudian diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran sedang (10x40) atau kuat (10x100). Spermatozoa yang mati dan hidup memiliki perbedaan diantaranya spermatozoa hidup akan terlihat tidak berwarna dan untuk spermatozoa mati akan berwarna merah muda

atau merah karena dindingnya menyerap warna akibat permeabilitas dindingnya meningkat. Jumlah minimal sel yang diamati sebanyak 210 sel, kemudian dihitung dengan rumus:

$$\text{spermatozoa Hidup}(\%) = \frac{\text{jumlah spermatozoa hidup}}{\text{jumlah total spermatozoa}} \times 100\%$$

(Mumu, 2009).

3. Abnormalitas Spermatozoa

Abnormalitas spermatozoa dapat dilihat pada kepala, badan dan ekor spermatozoa. Untuk melihat abnormalitas spermatozoa dapat dengan membuat preparat ulas dengan pengecatan menggunakan eosin 2%, kemudian dilihat dibawah mikroskop dengan perbesaran sedang (10x40) atau kuat (10x100). Jumlah spermatozoa yang dihitung minimal 210 sel, kemudian dihitung dengan rumus:

$$\text{abnormalitas}(\%) = \frac{\text{jumlah spermatozoa abnormal}}{\text{jumlah sel spermatozoa keseluruhan}} \times 100\%$$

(Salmah, 2014)

V. SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini maka dapat disimpulkan bahwa

1. penambahan dosis rafinosa dalam pengencer tris kuning telur menunjukkan pengaruh tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) terhadap persentase motilitas setelah *prefreezing*, persentase motilitas *Post Thawing Motility*, persentase hidup spermatozoa *Post Thawing Motility*, persentase abnormalitas spermatozoa setelah ekuilibrase, persentase abnormalitas spermatozoa setelah *prefreezing*, dan persentase abnormalitas spermatozoa *Post Thawing Motility*;
2. penambahan dosis rafinosa dalam bahan pengencer tris kuning telur berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap persentase motilitas spermatozoa setelah ekuilibrase berpola regresi linier dengan persamaan $= 65,58 - 2,36x$ dan persentase spermatozoa hidup setelah *prefreezing* berpola regresi linier dengan persamaan $= 79,13 - 4,68x$ serta memberikan pengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap persentase spermatozoa hidup setelah ekuilibrase berpola regresi linier dengan persamaan $= 81,23 - 4,47x$.

B. Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini, saran yang dapat diberikan adalah perlu diadakan penelitian lebih lanjut terhadap pemberian dosis rafinosa kurang dari 0,5% dalam pengencer tris kuning telur terhadap motilitas, persentase hidup, dan abnormalitas spermatozoa sapi Ongole.

DAFTAR PUSTAKA

- Aboagla EM, and T. Terada. 2004. Effects of supplementation of trehalosa extender containing egg yolk with sodium dodecyl sulfate on the freezability of goat spermatozoa. *Theriogenology* 9 (4) : 809—818
- Aerens, C.D., M. N. Ihsan, dan N. Isnaini. 2004. Perbedaan Kuantitatif dan Kualitaitaif Semen Segar pada Berbagai Bangsa Sapi Potong. Universitas Brawijaya. Malang
- Aini, K. 2014. Pengaruh Jarak Straw dengan Nitrogen Cair pada Proses *Pre Freezing* terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Limousin. Skripsi. Universitas Lampung. Bandar Lampung
- Aminasari, D.P. 2009. Pengaruh Umur Pejantan Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Limousin. [http:// elibrary.ub.ac.id/bitstream/123456789/21674/1/ Pengaruh umur pejantan- terhadap-kualitas-semenbeku- sapi-limousin.pdf](http://elibrary.ub.ac.id/bitstream/123456789/21674/1/Pengaruh_umur_pejantan-_terhadap-kualitas-semenbeku-_sapi-limousin.pdf). Diakses pada 8 Juni 2016
- Balai Besar Inseminasi Buatan Singosari. 2008. Standar Operating Procedure (SOP) Produksi Semen Beku. Singosari. Malang
- Balai Inseminasi Buatan Daerah Lampung Tengah. 2012. Standar Operasional Prosedur. BIBD Lampung Tengah. Lampung Tengah
- Bearden, H. J. and J. W Fuquay. 1984. *Applied Animal Reproduction*. 2nd edition. Reston Publishing Company. Reston. Virginia
- Blakely, J. dan D.H. Bade. 1992. Pengantar Ilmu Peternakan. Penerjemah: B. Srigandono. Cet. Ke-2. Gadjah Mada University. Press. Yogyakarta
- Burhan, B., 2003. Panduan Praktis Memilih Produk Daging Sapi. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
- Fathul. F., Liman, N. Purwaningsih, dan S.Tantalo. 2013. Pengetahuan Bahan Pakan dan Formulasi Ransum. Buku Ajar. Universitas Lampung. Bandar Lampung
- Feradis, 2010. Bioteknologi Reproduksi pada Ternak. Alfabeta. Bandung

- Garner, D.L dan E. S. E. Hafez. 2000. Spermatozoa and Seminal Plasma. In: Hafez B, and Hafez E.S.E. Reproduction in Farm Animal. 7th Ed. USA
- Hafez, E. S. E. 1987. Reproduction in Farm Animal, 4th Edition, Lea and Fibiger. Philadelphia.USA
- _____. 2000. Semen Evaluation in Reproduction in Farm Animals. 7th edition. Lippincott Williams and Wilkins. Maryland, USA
- Haryanto. 1996. Pengawetan Telur Segar. Kanisius. Yogyakarta
- Kayser, J.P., R.P. Amann, R.K. Shidefer, E.L. Squires, D.J. Jasko and B.W. Pickett. 1992. Effects of linier cooling rate on motion characteristics of stallion spermatozoa. Theriogenology 30: 601—614
- Kristanto. 2004. Peranan Gliserol dan Fetal Bovine Serum dalam Pengencer Tris Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Cair Domba Garut. Skripsi Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Krystalia, C. 2013. Metabolisme Fruktosa dan Galaktosa. <http://cindy-krystalia.co.id/2013/05/biokimia.html>. Diakses pada 8 Juni 2016
- Ladyofhats dan Rozzychan. 2007. Human Spermatozoa. http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Human_spermatozoa.png?uselang=id. Diakses pada 8 November 2015
- Mansjur. 2001. Metabolisme: Karbohidrat, Protein, Asam Nukleat. Fakultas MIPA. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Mukminat, A. 2014. Pengaruh Penambahan Berbagai Sumber Karbohidrat pada Pengencer Skim Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Bali. Skripsi. Universitas Lampung. Bandar Lampung
- Mulyono, S. 1998. Teknik Pembibitan Kambing dan Domba. Penebar Swadaya. Jakarta
- Mumu, M. I. 2009. Viabilitas Semen Sapi Simmental yang Dibekukan Menggunakan Krioprotektal Gliserol. Skripsi. Universitas Tadulako. Sulawesi Tengah
- Partodihardjo, S. 1992. Ilmu Reproduksi Hewan. Sumber Widya. Jakarta
- Poedjiadi, A. 1994. Dasar-dasar Biokimia. UI Press. Jakarta.
- Rahadi, S. 2008. Sejarah dan Manfaat Inseminasi Buatan. <http://ilmuternak.wordpress.com/materikuliah/reproduksi-ternak/sejarah-dan-manfaat-inseminasi-buatan/>. Diakses pada 8 November 2015

- Rizal, M. A. dan Herdis. 2008. Inseminasi Buatan pada Domba. Penerbit PT. Rineka Cipta. Jakarta
- Rizal, M., Herdis, A. Boediono, A.S. Aku dan Yulnawati. 2006. Peranan beberapa jenis gula dalam meningkatkan kualitas semen beku domba Garut. *JITV*. 11 (2) : 123—130
- Salmah, N. 2014. Motilitas, Persentase Hidup dan Abnormalitas Spermatozoa Semen Beku Sapi Bali pada Pengencer Andromed dan Tris Kuning Telur. Skripsi Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin. Makassar
- Salamon, S. and W.M.C. Maxwell. 2000. Storage of ram semen. *Anim. Reprod. Sci.* 62: 77—111
- Salisbury, G. W. and N. L. Van Denmark. 1985. Fisiologi dan Inseminasi Buatan pada Sapi (Physiologi and Artificial Insemination of Cattle). Diterjemahkan oleh Djanuar, R. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta
- Samsudewa, D. dan A. Suryawijaya. 2008. Pengaruh berbagai metode thawing terhadap kualitas semen beku sapi. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. 1: 88—92
- Sarwono B. 1995. Pengawetan Telur dan Manfaatnya. Penebar Swadaya, Jakarta
- Savitri, A. Oriza, L. Y. Tuty, S. Dondin, dan R. I. Arifiantini. 2014. Kualitas semen cair kambing Peranakan Etawah dalam modifikasi pengencer tris dengan trehalosa dan rafinosa. *Jurnal Veteriner*. Vol 15(1) : 11—22
- Setiono, N. 2015. Kualitas Semen Beku Sapi Brahman dengan Dosis Krioprotektan Gliserol yang Berbeda dalam Bahan Pengencer Tris Sitrat Kuning Telur. Skripsi. Universitas Lampung. Bandar Lampung
- Sinha, S., B.C. Deka, M.K. Tamulu, dan B.N. Borgohain. 1992. Effect of equilibration period and glicerol level in tris extender of quality of frozen goat semen. *Indian Vet. J.* Vol 69: 1107—1110
- Siregar, S. B., 2008. Penggemukan Sapi. Penebar Swadaya. Bogor
- SNI 4896.1. 2008. Semen Beku Sapi. Badan Standarisai Nasional (BSN) : Jakarta. sisni.bsn.go.id/index.php?/sni_main/sni/detail_sni/7026. Diakses pada 8 November 2015
- Steel, R.G.D. dan J.H. Torrie. 1993. Prinsip dan Prosedur Statistika. Edisi II Sumantri B, Penerjemah. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
- Steinbach J, and R. H. Foote. 1967. Osmotic pressure and pH effects on survival of frozen or liquid spermatozoa. *J. Dairy Sci.* 10 (1) : 1535—1538

Subowo. 1995. Biologi Sel. Angkasa. Bandung

Sugiarti, T., E. Triwulanningsih, P. Situmorang, R. G. Sianturi dan D. A. Kusumaningrum. 2004. Penggunaan Katalase dalam Produksi Semen Dingin Sapi. Pros. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor, 4—5 Agustus 2004. Puslitbang Peternakan. Bogor

Supriatna I, dan F. H. Pasaribu. 1992. In Vitro Fertilisasi, Transfer Embrio, dan Pembekuan Embrio. Bogor: Pusat Antar Universitas Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor. Bogor

Susilawati, T., P. Srianto, Hermanto dan E. Yuliani. 2003. Inseminasi Buatan dengan Spermatozoa Beku Hasil Sexing pada Sapi untuk Mendapatkan Anak dengan Jenis Kelamin Sesuai Harapan. Laporan Penelitian. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya. Malang

Toelihere, M.R. 1985. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Angkasa. Bandung

_____. 1993. Inseminasi Buatan pada Ternak. Angkasa. Bandung