

**PENGUNAAN BERBAGAI MACAM BAHAN PENGECER
TERHADAP KUALITAS SEMEN HASIL *SEXING*
PADA KAMBING BOER**

(Skripsi)

Oleh

ARDHYKA CHANDRA STEFANUS



**JURUSAN PETERNAKAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2021**

ABSTRAK

PENGUNAAN BERBAGAI MACAM BAHAN PENGECER TERHADAP KUALITAS SEMEN HASIL *SEXING* PADA KAMBING BOER

Oleh

Ardhyka Chandra Stefanus

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh berbagai bahan pengencer terhadap kualitas semen kambing Boer setelah dilakukan proses *sexing* menggunakan metode kolom albumin BSA (*Bovine Serum Albumin*) serta mengetahui bahan pengencer terbaik terhadap kualitas semen hasil *sexing* pada kambing Boer. Penelitian ini dilaksanakan pada 11 sampai dengan 25 Juli 2019 di Laboratorium Balai Inseminasi Buatan Lembang, Kayuambon, Lembang, Bandung, Jawa Barat. Rancangan percobaan pada penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga perlakuan dan tiga ulangan. Pengencer yang digunakan yaitu andromed, susu skim, dan biomed. Pengamatan kualitas semen meliputi motilitas, viabilitas, dan abnormalitas. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan menggunakan pengencer andromed (P1), susu skim (P2), dan biomed (P3) tidak berbeda nyata ($P>0,05$) terhadap motilitas, viabilitas dan abnormalitas semen kambing Boer hasil *sexing*.

Kata kunci: Kambing Boer, *Sexing*, Motilitas, Viabilitas, Abnormalitas.

ABSTRACT

THE USE OF VARIOUS KINDS OF DILUENTS TO THE QUALITY OF SPERMATOZOA SEXING RESULTS ON BOER GOAT

By

Ardhyka Chandra Stefanus

This research was aiming to determine the effect of various diluents on the quality of Boer goat's cement after the sexing process using the BSA (Bovine Serum Albumin) albumin column method and to find out the best diluent on the quality of cement from sexing. This research was conducted on July, 11th to 25th 2019 at the Lembang Artificial Insemination Laborator, Kayuambon, Lembang, West Java. The experimental design in this study used a completely randomized design method with three treatments and three replications. The diluents used are andromed, skim milk, and biomed. Observations of cement quality include motility, viability, and abnormality. The results of this research indicate that the treatment using andromed (P1), skim milk (P2), and biomed (P3) was not significantly different ($P>0,05$) on motility, viability, and abnormality of Boer goat's cement from sexing.

Keywords: Boer Goat, Sexing, Motility, Viability, Abnormality

**PENGUNAAN BERBAGAI MACAM BAHAN PENGECER
TERHADAP KUALITAS SEMEN HASIL *SEXING*
PADA KAMBING BOER**

oleh

Ardhyka Chandra Stefanus

Skripsi

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

pada

**Program Studi Peternakan
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**JURUSAN PETERNAKAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2021**

Judul Skripsi

: **PENGGUNAAN BERBAGAI MACAM BAHAN
PENGECER TERHADAP KUALITAS SEMEN
HASIL *SEXING* PADA KAMBING BOER**

Nama Mahasiswa

: **Ardhyka Chandra Stefanus**

Nomor Pokok Mahasiswa : 1514141023

Jurusan

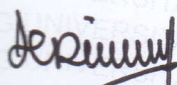
: **Peternakan**

Fakultas

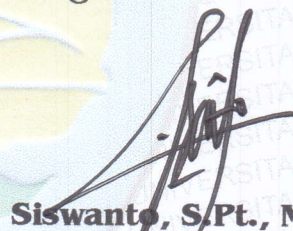
: **Pertanian**

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

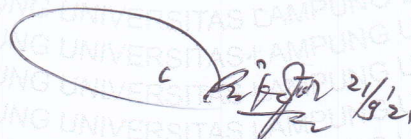


Sri Suharyati, S.Pt., M.P.
NIP 19680728 199402 2 002



Siswanto, S.Pt., M.Si.
NIP 19770423 200912 1 002

2. Ketua Jurusan Peternakan

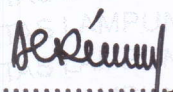


Dr. Ir. Arif Qisthon, M.Si.
NIP 19670603 199303 1 002

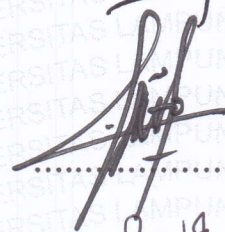
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

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



Sekretaris : Siswanto, S.Pt., M.Si.



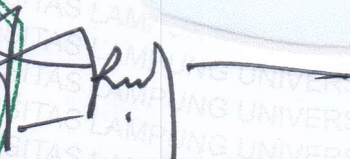
**Penguji
Bukan Pembimbing : drh. Madi Hartono, M.P.**



2. Dekan Fakultas Pertanian



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



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 03 Mei 2021

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Lampung Barat 29 Agustus 1997 dan merupakan anak pertama dari dua bersaudara dari pasangan Bapak Hadi Purwito dan Ibu Titik Idayanti. Penulis menyelesaikan pendidikan taman kanak-kanak (TK) di TK Citra Dharma Lampung Barat pada tahun 2003; pendidikan sekolah dasar (SD) di SDN 1 Karang Agung pada tahun 2009; sekolah menengah pertama (SMP) di SMP Negeri 02 Way Tenong pada tahun 2012; dan sekolah menengah atas (SMA) di SMA Negeri 01 Way Tenong pada tahun 2015. Penulis melanjutkan pendidikan perguruan tinggi di jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada tahun 2015 melalui jalur seleksi nasional masuk perguruan tinggi negeri (SNMPTN).

Selama masa perkuliahan penulis telah melaksanakan praktik umum (PU) di PT. Indo Prima Beef, Kecamatan Terbanggi Besar, Kabupaten Lampung Tengah. Kemudian penulis juga telah melaksanakan kuliah kerja nyata (KKN) di Desa Sidoarjo, Kecamatan Blambangan Umpu, Kabupaten Way Kanan selama 40 hari pada tahun 2019. Penulis aktif dalam kegiatan himpunan mahasiswa peternakan (HIMAPET) Universitas Lampung sebagai Anggota periode 2016--2017.

MOTTO

“Dengarkanlah nasihat dan terimalah didikan, supaya engkau menjadi bijak di masa depan. Banyaklah rancangan dihati manusia, tetapi keputusan Tuhan-lah yang terlaksana”

(Amsal 19:20--21)

“Menyesali nasib tidak akan mengubah keadaan. Terus berkarya dan bekerjalah yang membuat kita berharga”

(Abdurrahman Wahid)

“Jangan takut jatuh, karena yang tidak pernah memanjatlah yang tidak pernah jatuh. Yang takut gagal, karena yang tidak pernah gagal hanyalah orang-orang yang tidak pernah melangkah. Jangan takut salah, karena dengan kesalahan yang pertama kita dapat menambahkan pengetahuan untuk mencari jalan yang benar pada langkah yang kedua”

(Buya Hamka)

“Ketika kita merasakan problematika kehidupan yang mungkin terasa berat, percayalah problematika yang di hadapi setiap manusia mempunyai kapasitasnya masing-masing, kunci dari semua itu adalah tetap sabar teruslah berjuang dan jangan lupa untuk selalu mengucapkan syukur pada Tuhan”

(Ardhyka Chandra Stefanus)

SANWANCANA

Puji dan syukur penulis ucapkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena berkat rahmat dan hidayah Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian ini tanpa halangan yang berarti. Skripsi ini disusun berdasarkan penelitian yang telah dilaksanakan pada tanggal 11--25 Juli 2019 di Laboratorium Balai Inseminasi Buatan Lembang, Kayuambon, Lembang, Jawa Barat.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.--selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung--atas izin;
2. Bapak Dr. Ir. Arif Qisthon, M.Si.--selaku Ketua Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung--atas persetujuan kepada penulis dalam melaksanakan penelitian serta senantiasa memberikan dukungan, motivasi, dan pemahaman;
3. Bapak Dr. Ir. Erwanto, M.S.--selaku Pembimbing Akademik penulis Jurusan Peternakan--atas bimbingan, dukungan, dan nasihat kepada penulis;
4. Ibu Sri Suharyati, S.Pt, M. P.--selaku Dosen Pembimbing Utama-- yang senantiasa memberikan waktu, dukungan, motivasi, dan pemahaman;
5. Bapak Siswanto, S.Pt, M.Si.--selaku Dosen Pembimbing Anggota--yang senantiasa memberikan waktu, dukungan, motivasi, dan pemahaman;

6. Bapak drh. Madi Hartono, M.P.–selaku Dosen Penguji–yang senantiasa memberikan waktu, dukungan, motivasi, dan pemahaman;
7. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Peternakan–yangtelah memberikan pembelajaran dan pemahaman yang berharga;
8. Bapak, Ibu, Adik, serta semua keluarga–atas do’a, dukungan, dan kasih sayang yang selalu diberikan dengan tulus;
9. Sahabatku baik yang berada di lingkup Jurusan Peternakan maupun di luar Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung–atas do’a, dukungan, dan kasih sayang yang selalu diberikan dengan tulus;
10. Teman seperjuangan sekaligus keluarga besar Jurusan Peternakan angkatan 2015, terimakasih atas pertemanan dan dukungan selama perkuliahan sampai saat ini, semoga sukses selalu bersama kita semua, amin;
11. Kakanda dan Ayunda Angkatan 2013 dan 2014, serta adik-adik Angkatan 2016, 2017, dan 2018 Jurusan Peternakan yang telah memberikan semangat, saran, dan motivasi;
12. Orang tua dan adik yang selalu membantu dan memberi semangat pada penelitian ini;
13. Seluruh pihak yang ikut terlibat selama penelitian dan penyusunan skripsi penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi penelitian ini masih banyak terdapat kekurangan, akan tetapi penulis berharap skripsi penelitian yang sederhana ini dapat dimanfaatkan dengan sebaik-baiknya. Semoga seluruh bantuan yang telah

diberikan kepada penulis mendapat pahala dan ridho dari Tuhan Yang Maha Esa dan semoga skripsi penelitian ini bermanfaat bagi pembaca.

Bandar Lampung, 09 September 2021
Penulis,

Ardhyka Chandra Stefanus

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Tujuan Penelitian	5
C. Manfaat Penelitian	5
D. Kerangka Penelitian.....	5
E. Hipotesis	8
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	9
A. Kambing Boer	9
B. Semen	9
C. Faktor yang Mempengaruhi Kualitas Semen	11
D. Kandungan Kromosom Spermatozoa.....	13
E. <i>Sexing</i> Spermatozoa X dan Y	14
F. <i>Bovine Serum Albumin</i> (BSA)	17
G. Bahan Pengencer	19
G.1 Susu skim	21
G.2 Andromed.....	23

G.3 Biomed	24
H. Pemeriksaan Makroskopis.....	26
H.1 Warna	26
H.2 Volume	26
H.3 Derajat keasaman (pH).....	27
H.4 Konsistensi	27
I. Pemeriksaan Mikroskopis	28
I.1 Motilitas	28
I.2 Konsentrasi	30
I.3 Viabilitas.....	30
I.4 Abnormalitas.....	31
III. METODE PENELITIAN	33
A. Waktu dan Tempat	33
B. Alat dan Bahan	33
C. Metode Penelitian	34
D. Peubah yang Diamati.....	35
E. Prosedur Penelitian	35
E.1 Penampungan semen	36
E.2 Pengamatan kualitas semen segar.....	38
E.2.1 Pengamatan motilitas massa	38
E.2.2 Pengamatan motilitas individu	39
E.2.3 Pengamatan spermatozoa hidup.....	40
E.2.4 Pengamatan abnormalitas	41
E.3 <i>Sexing</i> dengan metode kolom albumin BSA	42

E.4 Pembuatan bahan pengencer.....	43
E.5 Pengenceran semen.....	46
F. Analisis Data	46
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	47
A. Penilaian Kualitas Semen Segar Kambing Boer	47
B. Pengaruh Perlakuan terhadap Motilitas Spermatozoa X dan Y.....	51
C. Pengaruh Perlakuan terhadap Viabilitas Spermatozoa X dan Y	53
D. Pengaruh Perlakuan terhadap Abnormalitas Spermatozoa X dan Y	56
V. SIMPULAN DAN SARAN	58
A. Simpulan.....	58
B. Saran	58
DAFTAR PUSTAKA	59
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi kandungan dalam bahan pengencer andromed	34
2. Komposisi kandungan dalam pengencer susu skim.....	34
3. Komposisi kandungan dalam pengencer biomed.....	35
4. Evaluasi semen segar kambing Boer.....	47
5. Hasil rataan persentase motilitas spermatozoa X dan Y kambing Boer	51
6. Hasil rataan persentase viabilitas spermatozoa X dan Y kambing Boer	53
7. Hasil rataan persentase abnormalitas spermatozoa X dan Y kambing Boer	56
8. Hasil pengamatan kualitas semen hasil <i>sexing</i> pada kambing Boer dengan pengencer andromed	70
9. Hasil pengamatan kualitas semen hasil <i>sexing</i> pada kambing Boer dengan pengencer susu skim	70
10. Hasil pengamatan kualitas semen hasil <i>sexing</i> pada kambing Boer dengan pengencer biomed	70
11. Perhitungan rataan motilitas spermatozoa X.....	71
12. Analisis ragam pengaruh perlakuan terhadap motilitas X	72
13. Perhitungan rataan motilitas spermatozoa Y.....	72
14. Analisis ragam pengaruh perlakuan terhadap motilitas Y	73
15. Perhitungan rataan viabilitas spermatozoa X.....	73
16. Analisis ragam pengaruh perlakuan terhadap viabilitas X.....	74
17. Perhitungan rataan viabilitas spermatozoa Y.....	75

18. Analisis ragam pengaruh perlakuan terhadap viabilitas Y.....	76
19. Perhitungan rata-rata abnormalitas spermatozoa X.....	76
20. Analisis ragam pengaruh perlakuan terhadap abnormalitas X.....	77
21. Perhitungan rata-rata abnormalitas spermatozoa Y.....	77
22. Analisis ragam pengaruh perlakuan terhadap abnormalitas Y.....	78

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Transformasi konformasi BSA oleh perubahan pH.....	18
2. Prosedur penelitian.....	36
3. Pembuatan bahan pengencer.....	79
4. Proses <i>sexing</i> spermatozoa.....	79
5. Pengenceran spermatozoa.....	80
6. Pengamatan spermatozoa.....	80

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang dan Masalah

Kambing Boer merupakan salah satu kambing yang dapat beradaptasi cepat dengan lingkungannya. Kambing Boer berasal dari Afrika Selatan dan dikembangkan di Australia. Bobot dewasa kambing ini untuk jantan mencapai 110 kg dan betina adalah 100 kg (Malan, 2000). Tingkat pertumbuhan yang mencapai lebih dari 225 g/ekor/hari serta penampilan tubuhnya yang kompak mengakibatkan *breed* ini telah diakui sebagai salah satu kambing yang pantas disebut sebagai kambing pedaging (Warmington dan Kirton, 1990).

Kambing Boer merupakan ternak yang berasal dari daerah sub tropis, tetapi ternak ini mempunyai potensi yang cukup tinggi untuk beradaptasi di daerah tropis.

Terutama di Indonesia, ternak ini dapat digunakan untuk meningkatkan produktivitas kambing lokal dengan cara persilangan (Nasich, 2010).

Permasalahan tentang persilangan kambing Boer salah satunya adalah kurang memadai pejantan kambing Boer serta harga kambing Boer di atas rata-rata kambing di Indonesia sehingga para peternak enggan untuk memelihara kambing ini. Selain itu, jika dilihat dari segi genetik kambing ini merupakan kambing yang mudah mengalami kehilangan bahan genetik setiap waktu yang disebabkan oleh kematian secara mendadak dan libido yang rendah (Drouineaud *et al.*, 2003).

Salah satu upaya dalam meningkatkan mutu dan populasi kambing Boer adalah dengan jalan Inseminasi Buatan (IB). Dunia peternakan modern memandang IB memiliki peranan yang sangat besar dalam meningkatkan efisiensi penggunaan pejantan, terutama pemanfaatan pejantan unggul. IB dinilai lebih praktis dan memiliki angka kebuntingan lebih tinggi dibandingkan dengan kawin alam, lebih praktis karena semen beku dapat dibawa hanya dengan termos yang berisikan nitrogen cair dan lebih hemat dalam biaya pengangkutan dibanding langsung membawa pejantan ke tempat betina.

Seiring dengan kemajuan teknologi dalam bidang reproduksi ternak, saat ini dikenal adanya semen hasil *sexing*. Teknologi *sexing* spermatozoa adalah proses pemisahan spermatozoa pembawa kromosom X dan Y untuk memperoleh kelahiran ternak sesuai dengan jenis kelamin yang diinginkan. Pemanfaatan teknologi *sexing* merupakan pilihan tepat untuk mendukung peran IB dalam rangka meningkatkan efisiensi usaha peternakan. Pembangunan bidang peternakan memprioritaskan anak berkelamin jantan untuk kemudian dijadikan ternak potong dan anak berjenis kelamin betina sebagai penghasil susu ataupun sebagai calon indukan berikutnya. Penentuan jenis kelamin anak sebelum dilahirkan menggunakan semen hasil *sexing* lebih menguntungkan dari segi ekonomis, karena dapat menekan biaya pemeliharaan juga dapat menunjang program *breeding* dalam pemilihan bibit unggul.

Pemisahan kromosom X dan Y salah satunya dapat dilakukan dengan metode sedimentasi dengan berbagai konsentrasi larutan Bovine Serum Albumin (BSA). Metode ini didasarkan atas perbedaan motilitas spermatozoa X dan Y.

Spermatozoa Y memiliki massa dan ukurannya lebih kecil dibandingkan spermatozoa X, sehingga sperma Y lebih cepat bergerak atau mempunyai daya penetrasi yang tinggi untuk masuk ke suatu larutan yang mempunyai konsentrasi tinggi.

Aplikasi teknologi IB akan lebih berdaya guna, bila anak yang dilahirkan dapat ditentukan jenis kelaminnya sesuai dengan tujuan peternakan, misalnya pada peternakan potong akan lebih mengharapkan kelahiran anak jantan dari suatu perkawinan dibanding anak betina, tetapi sebaliknya bagi peternak susu tentunya akan lebih mengharapkan kelahiran anak betina dibanding anak jantan. Dari segi ekonomis, penentuan jenis kelamin anak sebelum dilahirkan lebih menguntungkan, selain dapat menekan biaya pemeliharaan juga dapat menunjang program *breeding* dalam pemilihan bibit unggul. Untuk mencapai tujuan tersebut dapat dilakukan dengan cara menginseminasikan seekor ternak betina birahi dengan spermatozoa yang sudah dipisahkan (spermatozoa berkromosom X dan spermatozoa berkromosom Y). Pengontrolan jenis kelamin dapat dimulai dari pengondisian saluran reproduksi ternak betina agar lebih baik bagi spermatozoa X dari spermatozoa Y atau sebaliknya sampai dengan pemisahan spermatozoa X dan Y sebelum dilakukan IB (inseminasi buatan) atau IVF (*in vitro fertilization*) (Sukra *et al.*, 1989).

Spermatozoa hasil *sexing* seperti halnya spermatozoa tanpa *sexing* juga memerlukan pengencer yang mampu melindungi dan menyediakan lingkungan yang optimal bagi spermatozoa agar kualitas spermatozoa hasil *sexing* dapat dipertahankan (Susilawati *et al.*, 2002).

Beberapa bahan pengencer yang dapat digunakan adalah andromed, biomed, dan susu skim. Andromed merupakan pengencer untuk semen beku dan cair.

Andromed mengandung lesitin nabati yang berfungsi melindungi membran plasma spermatozoa (Aires *et al.*, 2003).

Susu skim merupakan pengencer spermatozoa yang mengandung zat nutrisi yang dapat dimanfaatkan oleh spermatozoa sebagai sumber energi. Selain itu, susu skim juga mengandung zat lipoprotein dan lesitin sehingga bisa digunakan dalam pengencer semen untuk melindungi spermatozoa dari pengaruh kejutan dingin (*cold shock*) dan air susu juga mengandung enzim yang hancur pada waktu pemanasan.

Biomed merupakan salah satu pengencer komersil dengan bahan penyusun utamanya yaitu kuning telur yang diharapkan mampu mempertahankan kualitas spermatozoa. Kuning telur umumnya ditambahkan ke dalam pengencer semen sebagai sumber energi, agen protektif dan dapat memberikan efek sebagai penyangga terhadap sperma. Bagian yang berperan sebagai protektif adalah lipoprotein berkepekatan rendah (*low density lipoprotein*), yang mengandung lipid sebesar 89% dan sisanya adalah protein yang secara bersama-sama aktif dalam pembekuan semen (Walson dan Martin, 1975).

Penggunaan bahan pengencer yang tepat dapat memberikan perlindungan terhadap sel spermatozoa dan menjaga kualitas semen setelah proses pembekuan ataupun semen hasil *sexing*. Saat ini belum pernah dilakukan penelitian tentang penggunaan berbagai macam bahan pengencer terhadap kualitas semen hasil *sexing* pada kambing Boer, oleh karena itu penulis ingin melakukan penelitian

tentang penggunaan berbagai macam bahan pengencer terhadap kualitas semen hasil *sexing* pada kambing Boer.

B. Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh berbagai bahan pengencer terhadap kualitas spermatozoa kambing Boer setelah dilakukan proses *sexing* menggunakan metode kolom albumin BSA (*Bovine Serum Albumin*) serta mengetahui bahan pengencer terbaik terhadap kualitas semen hasil *sexing* pada kambing Boer.

C. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan bermanfaat sebagai informasi kepada masyarakat tentang pengaruh bahan pengencer terhadap kualitas semen hasil *sexing* menggunakan metode kolom albumin BSA pada kambing Boer, serta untuk mendapatkan hasil *sexing* spermatozoa X dan Y untuk diaplikasikan dilapangan agar memperoleh anak dengan jenis kelamin sesuai harapan.

D. Kerangka Pemikiran

Semen adalah cairan yang mengandung gamet jantan atau spermatozoa dan sekresi kelenjar pelengkap saluran reproduksi jantan. Bagian cairan dari suspensi tersebut yang terbentuk pada ejakulat disebut plasma semen (Hafez, 1987).

Menurut Toelihere (1993), semen adalah sekresi kelamin jantan yang secara

normal diejakulasikan ke dalam saluran kelamin betina sewaktu kopulasi, tetapi dapat juga ditampung dengan berbagai cara untuk keperluan inseminasi buatan. Semen mengandung banyak spermatozoa yang berada dalam medium cair, yaitu plasma spermatozoa. Menurut Feradis (2010) tiap spermatozoa terdiri dari bagian kepala terkumpul bahan-bahan genetik dan bagian ekor yang menyebabkan spermatozoa dapat bergerak maju sendiri. Sel spermatozoa mempunyai fungsi dalam pembuahan ovum hewan betina.

Sexing atau pemisahan sperma adalah kegiatan yang bertujuan untuk memisahkan spermatozoa yang membawa sifat kelamin jantan dan kelamin betina.

Pemanfaatan teknologi pemisahan spermatozoa X dan Y atau lebih sering disebut *sexing sperm* telah menjadi alternatif yang tepat dalam aplikasi inseminasi buatan (IB) terkait upaya peningkatan efisiensi reproduksi dan peningkatan efisiensi usaha peternakan. *Sexing* merupakan upaya untuk mengubah proporsi alamiah spermatozoa X dan Y (50% banding 50%) menjadi proporsi yang diinginkan dengan menggunakan metode tertentu. Teknologi ini diyakini mampu meningkatkan nilai aplikasi IB, karena mampu menghasilkan bibit unggul sesuai jenis kelamin dan tujuan pemeliharaan (Takdir *et al.*, 2017).

Pemisahan spermatozoa dapat dilakukan dengan menggunakan BSA sebagai sumber albumin. BSA merupakan bahan kimia yang berisi albumin berasal dari sapi, sedangkan kandungan albumin dalam senyawa BSA yaitu 100 mg/ml.

Pemisahan dengan menggunakan albumin merupakan metode yang cukup fleksibel dan mudah diterapkan. Metode ini didasarkan atas perbedaan motilitas sperma X dan Y sebagai implikasi dari perbedaan massa dan ukuran. Massa dan

ukuran sperma Y yang lebih kecil dari sperma X menyebabkan sperma tersebut mampu bergerak lebih cepat atau mempunyai daya penetrasi yang lebih tinggi untuk memasuki suatu larutan (Jaswandi, 1996).

Pemisahan spermatozoa X dan Y dengan menggunakan metode kolom yang mengandung larutan BSA didasarkan pada perbedaan motilitas antara spermatozoa X dan Y dalam menembus larutan yang mengandung BSA. Teknik pemisahan ini melibatkan beberapa tahap perlakuan terhadap semen, sejak ditampung sampai dengan pelaksanaan inseminasi buatan atau fertilisasi *in-vitro* (Maxwell *et al.*, 1984). Henri (1992) menyatakan bahwa pada sperma kambing menggunakan kolom BSA 6% sebanyak 6 ml, menghasilkan rasio jenis kelamin 38,5% jantan dan 61% betina untuk inseminasi dengan fraksi atas, serta 83% jantan dan 16,7% betina untuk inseminasi dengan fraksi bawah. Jaswandi (1992) melakukan pemisahan sperma sapi dengan menggunakan BSA 6% (fraksi atas sebanyak 3 ml) dan 10% (fraksi bawah sebanyak 3 ml). Hasil penelitian menunjukkan bahwa inseminasi dengan fraksi bawah memperoleh 62,5% jantan dan 37,5% betina sedangkan inseminasi fraksi bagian tengah diperoleh 22,2% jantan dan 77,8% betina. Hasil yang berbeda dilaporkan oleh Somarny *et al.* (2011) pemisahan spermatozoa sapi menggunakan BSA dengan konsentrasi 15% dan 20% untuk meningkatkan spermatozoa Y yang dievaluasi dengan teknik *Fluorescence in situ hybridization* tidak efektif dan rasio sperma X dan Y sebelum pemisahan dan sesudah pemisahan tidak berbeda secara statistik.

Bahan pengencer merupakan sarana hidup bagi spermatozoa yang berfungsi sebagai pengganti plasma semen. Pengencer semen yang dibuat harus memiliki

fungsi yang menyerupai plasma semen. Salah satu fungsi yang penting dari bahan pengencer harus dapat menyediakan bahan makanan sel spermatozoa untuk proses metabolisme baik secara aerob maupun anerob. Berdasarkan penelitian Achlis *et al.* (2013) yang telah dilakukan, dapat ditarik kesimpulan bahwa penggunaan pengencer susu skim, tris kuning telur dan andromed dapat mempertahankan motilitas, viabilitas, dan integritas membran spermatozoa kambing Peranakan Etawa (PE). Presentase motilitas, viabilitas, dan integritas membran spermatozoa tertinggi diperoleh pada pengencer andromed yang mengandung lesitin nabati, urutan kedua pengencer tris kuning telur, dan yang terendah pengencer susu skim. Pengencer biomed yang ditambahkan kuning telur juga dapat memberikan perlindungan yang lebih baik bagi spermatozoa. Kandungan lesitin (*phosphatidylcholine*) yang terdapat dalam kuning telur berfungsi untuk melindungi spermatozoa dari *cold shock* dengan cara melapisi membran spermatozoa (Nalley dan Arifiantini, 2010).

E. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah:

1. terdapat pengaruh berbagai macam bahan pengencer terhadap kualitas semen hasil *sexing* pada kambing Boer;
2. terdapat salah satu bahan pengencer terbaik yang dapat mempertahankan kualitas semen hasil *sexing* pada kambing Boer.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Kambing Boer

Kambing Boer berasal dari Afrika Selatan dan telah menjadi ternak yang ter-registrasi selama lebih dari 65 tahun. Kata "Boer" artinya petani. Kambing Boer merupakan satu-satunya kambing pedaging yang sesungguhnya yang ada didunia, karena pertumbuhannya yang cepat. Menurut Ted dan Shipley (2005), kambing Boer jantan dewasa berumur 2--3 tahun dapat mencapai bobo tantara 110--135 kg dan kambing Boer betina dewasa antara 90--100 kg. Dengan laju penambahan bobot badan harian berkisar antara 203--204 g (Erasmus, 2000).

Ciri-ciri kambing Boer yaitu sebagai berikut : bulu tubuhnya berwarna putih, bulu pada bagian leher berwarna gelap, tanduknya melengkung ke belakang, badan kuat, gerakannya gesit, bentuk tubuhnya simetris dengan perdagingan yang merata (American Boer Goat Association, 2001).

B. Semen

Semen merupakan cairan yang disekresikan oleh pejantan yang berisi plasma semen dan spermatozoa pada saat ejakulasi. Semen terdiri dari bagian padat dan bagian cair, bagian padat ialah spermatozoa dan bagian cair disebut plasma semen

(Yatim, 1994). Spermatozoa memiliki bagian yang masing-masing memiliki fungsi yang mendukung proses fertilisasi dapat berlangsung. Bagian-bagian tersebut terbagi atas 3 bagian utama, yaitu kepala, leher, dan ekor. Kepala spermatozoa pada kambing lebih panjang dari pada spermatozoa manusia (Siciliano *et al.*, 2008). Di dalam kepala spermatozoa terdapat inti sel sedangkan pada ekor mengandung apparatus yang digunakan untuk menggerakkan sel. Komponen kimia spermatozoa adalah asam nukleat, protein dan lemak (Susilawati, 2011). Plasma semen mengandung zat penyangga yang berfungsi mempertahankan pH medium dan berbagai senyawa lainnya yang dapat menjalankan fungsi sebagai senyawa krioprotektan (Souhoka *et al.*, 2009). Semen kambing berwarna putih dan krem jika konsentrasi spermatozoa tinggi. Kadang-kadang sering berwarna kuning, karena mengandung riboflavin yang disekresikan oleh kelenjar vesikula (Evans dan Maxwell, 1987). Derajat kekeruhannya tergantung pada konsentrasi spermatozoa semakin keruh semen maka jumlah spermatozoa per mililiter semen semakin banyak (Partodihardjo, 1992).

Derajat keasamaan (pH) semen merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi kualitas semen, pH akan menyebabkan kematian pada spermatozoa jika terlalu rendah maupun tinggi. pH Semenkambing berkisar antara 6--7 (Pamungkas *et al.*, 2003). Variasi pH ini terdapat kaitannya dengan kadar asam laktat yang dihasilkan dalam proses akhir metabolisme anaerobik pada sperma (Toelihere, 1985).

Volume semen setiap penampungan untuk masing-masing ternak berbeda-beda hal tersebut dipengaruhi oleh bangsa, umur, ukuran ternak, dan makanan (Partodihardjo, 1992). Volume semen kambing bervariasi setiap penampungan yaitu 0,5--1,0 ml (Devendra dan Burns, 1994) dan atau 0,5--1,5 ml (Wildeus, 1995).

Penilaian konsentrasi spermatozoa tiap milliliter semen sangat penting, karena faktor ini dipakai sebagai kriteria penentu kualitas semen dan menentukan tingkat pengencerannya (Foote, 1980). Konsentrasi yaitu jumlah spermatozoa per unit volume (per mililiter). Konsentrasi spermatozoa tiap ejakulasi berkisar antara 1,5- $5,0 \times 10^9$ spermatozoa/ml (Wildeus, 1995). pH rata-rata semen kambing berkisar sekitar 7,0 (Partodihardjo, 1992).

C. Faktor yang Mempengaruhi Kualitas Semen

Keberhasilan perkawinan atau inseminasi buatan memerlukan semen yang berkualitas dan berkuantitas baik. Menurut Yendraliza (2008), semen yang berkualitas dan berkuantitas dipengaruhi oleh:

1. Pakan

Pemberian pakan pada ternak haruslah pakan yang memiliki kualitas dan kuantitas baik. Karena makanan selain untuk pertumbuhan badannya, pakan juga sangat di butuhkan untuk reproduksi. Pada tingkat konsumsi pakan yang rendah akan terjadi kekurangan nutrisi yang menghambat pertumbuhan pejantan muda, penurunan berat badan ternak, gejala *stress*,

penurunan jumlah spermatozoa per ejakulat, kehilangan libido, dan terlambatnya masa pubertas.

2. Konstituen makanan

Pada kondisi manajemen pemeliharaan yang normal, kemungkinan defisiensi kualitas dan kuantitas protein yang diberikan kepada pejantan sangat sedikit. Jika protein yang di dalam ransum kurang dari 2%, terjadi pengurangan konsumsi makanan, penurunan berat badan, kelemahan, dan penurunan libido dan penurunan produksi spermatozoa pada ternak.

3. Suhu dan musim

Perubahan suhu yang tidak menentu dapat mempengaruhi reproduksi ternak jantan. Musim juga mempengaruhi kualitas dan kuantitas semen. Peningkatan suhu testis karena *cryptorchidismus* dan *stress* yang tersembunyi, herniainguinalis, penyakit-penyakit kulit atau luka lokal, demam yang tak kunjung mereda, penyakit menular, dan peningkatan suhu udara karena kelembaban yang tinggi dapat menyebabkan kegagalan pembentukan dan penurunan produksi spermatozoa.

4. Frekuensi ejakulasi

Pemakaian pejantan dalam satu satuanwaktu perlu di batasi mengingat hasil-hasil pengamatan bahwa frekuensi ejakulasi yang terlampau sering dalam satuan waktu yang pendek cenderung untuk menurunkan libido, volume semen dan jumlah spermatozoa per ejakulasi. Ternak jantan yang belum dewasa harus dibatasi pemakaiannya karena penurunan kualitas semen yang dihasilkan, dan dapat terjadi penurunan libido.

5. Libido dan fisik

Kualitas dan kuantitas semen di pengaruhi oleh libido. Faktor yang mempengaruhi libido dapat berasal dari luar atau dari dalam tubuh ternak. Faktor dari dalam termasuk fisiologik terutama adalah fisik yang mempengaruhi kopulasi normal. Sedangkan lain yaitu penyakit, pengangkutan dalam perjalanan, umur, hereditas, lingkungan dan gerak tubuh.

Menurut Susilawati (2014), faktor penyesuaian suhu dari suhu tubuh ternak ke suhu ruang dapat juga mempengaruhi pergerakan spermatozoa karena spermatozoa harus mampu menyesuaikan kondisi fisik dengan lingkungan.

D. Kandungan Kromosom Spermatozoa

Setiap individu mempunyai kromosom kelamin yang dalam perkembangannya menentukan jenis kelamin anak yang dilahirkan. Sepasang kromosom terdiri dari pasangan kromosom yang sejenis atau homozigot (XX), dan pasangan kromosom yang tidak sejenis atau heterozigot (XY). Ternak jantan pada mamalia membawa pasangan kromosom kelamin yang heterozigot (XY) dan memproduksi dua macam gamet dalam proporsi yang seimbang yaitu gamet yang membawa kromosom X dan Y. Betina membawa pasangan kromosom yang homozigot (XX), sehingga hanya menghasilkan satu jenis gamet. Kombinasi dari gamet yang mungkin terbuahi hanya dua dan hasilnya 50 % jantan dan 50 % betina (Pineda, 1989).

Spermatozoa hanya mengandung setengah jumlah DNA pada sel-sel somatik sebagai hasil pembelahan reduksi selama spermatogenesis, sehingga terbentuk dua macam kromosom. Spermatozoa yang membawa kromosom X disebut spermatozoa X dan spermatozoa yang membawa kromosom Y disebut spermatozoa Y. Spermatozoa X pada mamalia jika membuahi sel telur akan menghasilkan embrio betina sedangkan spermatozoa Y akan menghasilkan embrio jantan (Graves, 1994 dan Toelihere, 1985).

Semua sel tubuh akan didapatkan autosom-autosom yang berpasangan yang diploid dan satu pasang seks kromosom. Secara primer jenis kelamin ditentukan oleh kromosom seks. Hewan mamalia dalam semua sel tubuh betina didapatkan dua kromosom X dan pada hewan jantan didapatkan satu kromosom X dan satu kromosom Y (Yatim, 1986).

E. Sexing Spermatozoa X dan Y

Jenis kelamin ditentukan oleh adanya kromosom X dan Y pada spermatozoa pejantan (Garner dan Hafez, 2000). Spermatozoa berkromosom X, jika membuahi sel telur akan menghasilkan embrio betina. Sedangkan spermatozoa berkromosom Y, akan menghasilkan embrio jantan (Susilawati *et al.*, 1999). Spermatozoa X dan Y masing-masing berbeda dalam ukuran dan bentuk spermatozoa, berat, densitas, motilitas, muatan, dan kandungan biokimia pada permukaannya (Hafez, 2000). Perbedaan tersebut yang menyebabkan spermatozoa kromosom X dan kromosom Y dapat dipisahkan.

Banyak metode *sexing* spermatozoa kromosom X dan kromosom Y yang telah dilakukan. Metode pemisahan tersebut antara lain yaitu sedimentasi, *albumin column*, sentrifugasi *gradien densitas*, *elektroforesis*, H--Y antigen, *flow cytometry* dan, filtrasi dengan *Sephadex column* (Hafez, 2000). Kaiin *et al.* (2008) menyatakan bahwa metode pemisahan sperma sapi yang sudah banyak digunakan diluar negeri menggunakan *flow cytometry* yang secara akurat dapat mengukur kandungan DNA sperma sehingga dapat dibedakan antara sperma pembawa jenis kelamin betina (X) atau pembawa jenis kelamin jantan (Y). Johnson dan Seidel (1999) menyatakan bahwa dengan *sexing* sperma menggunakan *flow cytometry* dapat diperoleh 85%--95% kelahiran anak dengan jenis kelamin sesuai.

Namun menurut Kaiin *et al.* (2008) menyatakan bahwa harga peralatan *flow cytometry* yang cukup mahal mendorong pengembangan teknik yang lebih sederhana yaitu dengan menggunakan metode kolom albumin dengan menggunakan serum albumin sapi *Bovine Serum Albumin* (BSA). Berdasarkan hasil penelitian Kaiin dan Rasdik (2005) diperoleh bahwa konsentrasi BSA 5%--10% memberikan hasil optimum dalam memisahkan sperma X dan Y pada sapi penelitian. Berdasarkan hasil penelitian Afiati (2004), yang menggunakan kolom BSA 5%--10% mampu memperoleh spermatozoa X sebesar $72\% \pm 5,3$ pada fraksi atas dan spermatozoa Y sebesar $77\% \pm 6,5$ pada fraksi bawah.

Metode sedimentasi menggunakan BSA adalah metode yang dinilai berhasil dalam penerapan teknologi *sexing*. Penambahan BSA yang memiliki kandungan asam amino dan plasma protein pada semen yang telah diencerkan diharapkan

dapat mensubstitusi penurunan konsentrasi berbagai bahan yang terdapat dalam plasma semen akibat proses pengenceran, sehingga dapat menjaga stabilitas membran sel spermatozoa (Gadea, 2003).

Perbedaan konsentrasi BSA yang semakin meningkat diharapkan dapat memisahkan spermatozoa yang mempunyai motilitas tinggi (spermatozoa Y) akan mampu menembus konsentrasi medium pemisah yang lebih pekat, sedangkan spermatozoa X akan tetap berada pada media yang mempunyai konsentrasi lebih rendah (Ericsson and Glass, 1982).

Keberhasilan proses *sexing* dengan metode ini dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya yaitu lama waktu inkubasi sperma. Waktu inkubasi yang terlalu singkat akan menghasilkan proporsi sperma X dan sperma Y yang sedikit, sedangkan waktu inkubasi terlalu lama dapat mengakibatkan bercampurnya kembali spermatozoa X dan Y pada lapisan medium yang berbeda konsentrasi selain itu dapat terjadi peningkatan kerusakan pada sel sperma sehingga menurunkan kualitasnya. Beberapa peneliti telah melaporkan tentang pengaruh lama inkubasi. Waktu inkubasi 45 menit adalah waktu optimum menghasilkan proporsi spermatozoa kromosom X dan Y paling tinggi dibandingkan lama inkubasi 60 dan 75 menit dan kualitas semen terbaik pasca *sexing*, yaitu proporsi spermatozoa X sebesar $75,40\% \pm 3,20\%$ dengan angka motilitas $75,89\% \pm 2,13\%$ hasil ini diperoleh dari penelitian yang membandingkan lama waktu inkubasi (45, 60 dan 75 menit) pada proses *sexing* spermatozoa kambing Peranakan Etawa menggunakan media *sexing* BSA (Solihati *et al.*, 2017).

Waktu inkubasi yang terlalu singkat akan menghasilkan proporsi sperma X dan sperma Y yang sedikit, sedangkan waktu inkubasi terlalu lama dapat mengakibatkan bercampurnya kembali spermatozoa X dan Y pada lapisan medium yang berbeda konsentrasi selain itu dapat terjadi peningkatan kerusakan padasel sperma sehingga menurunkan kualitasnya (Solihati *et al.*, 2017).

F. *Bovine Serum Albumin (BSA)*

Bovine Serum Albumin (BSA) merupakan salah satu protein yang paling luas diteliti dan mempunyai kandungan protein yang berlimpah dalam plasma dengan konsentrasi 5 g/500 ml. BSA mempunyai komposisi asam amino sebanyak 20 macam (Friedli, 2006).

Dengan penambahan BSA pada bahan pengencer kandungan asam amino atau plasma protein pada semen yang telah diencerkan diharapkan dapat mensubstitusi penurunan konsentrasi berbagai bahan yang terdapat dalam plasma semen akibat proses pengenceran, sehingga dapat menjaga stabilitas membran sel spermatozoa (Gadea, 2003). Yamashiro *et al.* (2006) mengatakan bahwa penambahan 5% BSA dalam bahan pengencer semen kambing menghasilkan motilitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan semen tanpa BSA.

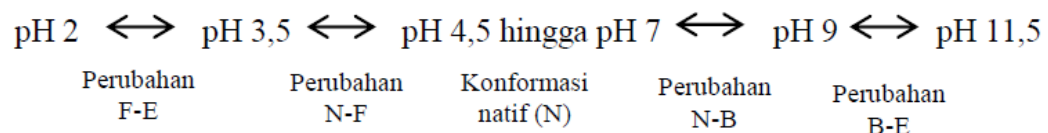
BSA sering digunakan sebagai model untuk studi fisika-kimia protein karena merupakan polipeptida yang mudah tersedia (Carter dan Ho, 1994). BSA merupakan suatu protein globular yang tersusun dari dua puluh asam amino esensial dalam struktur yang terdiri dari 583 unit dengan asam amino terbanyak pertama yaitu leusin (60 unit) dan yang kedua yaitu lisin (59 unit) (Peters, 1995).

Asam amino lisin yang memiliki rantai samping gugus amina dan *N*-terminal asam amino secara umum merupakan gugus fungsional penyusun protein yang menjadi sasaran untuk modifikasi molekul (Wong, 2000). Berat molekul BSA adalah 66.500 Da (Peters, 1995; Gonzalez-Flecha *et al.*, 2003).

BSA sangat mudah larut dalam air dan hanya dapat diendapkan menggunakan garam netral yang memiliki konsentrasi tinggi seperti ammonium sulfat.

Kestabilan larutan BSA sangat baik, terlebih jika disimpan dalam keadaan beku (Rani, 2012). Albumin akan mengalami koagulasi oleh pemanasan (Lewis, 1993).

Ketika dipanaskan pada suhu 50° C atau lebih, albumin akan segera membentuk agregat hidrofobik yang tidak dapat kembali ke bentuk monomernya walaupun telah didinginkan (Sigma, 2000). BSA memiliki kisaran *Isoelectric Point* (IP) antara pH 4,7 sampai 5,2 (Kongraksawech *et al.*, 2007) dan transformasi konformasi proteinnya dipengaruhi oleh perubahan pH seperti yang terlihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Transformasi konformasi BSA oleh perubahan pH (Foster *et al.*, 1977; Michniket *al.*, 2005; Yamasaki *et al.*, 1990)

Pada pH antara 4,5 dan 7, BSA berada pada bentuk *native* (N). Penurunan pH dari 4,5 hingga 3,5, mengubah secara reversibel bentuk *native* (N) menjadi bentuk *fast* (F) yang berarti dapat bermigrasi secara cepat pada gel elektroforesis.

Penurunan kembali pH dari 3,5 hingga 2, mengubah konformasi menjadi bentuk

expanded (E). Ketika pH dinaikkan dari 7 hingga 9, bentuk N akan berubah menjadi bentuk *basic* (B) dan selanjutnya menjadi bentuk E jika pH terus dinaikkan. Konformasi *native* (N) merupakan bentuk paling kompak atau padat, sedangkan bentuk *expanded* (E) merupakan struktur yang paling terbuka (Foster, 1977; Michnik *et al.*, 2005; Yamasaki *et al.*, 1990).

BSA sering digunakan sebagai penstabil untuk protein terlarut lainnya atau enzim yang labil. Dalam aplikasi di bidang biokimia, BSA digunakan sebagai *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), *Immunoblots*, dan *Immuno histo chemistry* (IHC) (Rani, 2012).

BSA juga dapat digunakan sebagai standar pada kalibrasi protein untuk menentukan kuantitas protein lain dengan menggunakan metode *Lowry* dan *Bradford protein assay*, dan sebagai *blocking agent* pada *Western blots* (Putnam, 1975 ; Rani, 2012).

G. Bahan Pengencer

Toelihere (1993) menyatakan bahwa pengenceran semen bertujuan untuk menambah volume dari setiap ejakulasi dan memberi zat-zat makanan yang diperlukan untuk mempertahankan daya tahan hidup dan fertilitas spermatozoa, disamping itu pengencer harus mempunyai sifat-sifat seperti plasma semen yaitu harus dapat menciptakan keadaan yang memungkinkan spermatozoa tahan terhadap kondisi buatan yang berhubungan dengan penyimpanan.

Ketersediaan sumber energi yang berasal dari karbohidrat merupakan salah satu syarat untuk pengencer yang baik. Karbohidrat memiliki beberapa fungsi yaitu sumber energi bagi sperma selama inkubasi, memelihara tekanan osmotik cairan dan dapat bertindak sebagai krioprotektan. Karbohidrat merupakan jenis sumber energi terbaik bagi sperma. Terdapat tiga jenis karbohidrat yang mudah didapat dan sering digunakan sebagai sumber energi bagi sperma dalam berbagai jenis penelitian yaitu glukosa, fruktosa, dan sukrosa (Salisbury dan VanDemark, 1985).

Utomo dan Sumaryati (2000) menyatakan bahwa semakin lama waktu penyimpanan maka nutrisi yang terdapat dalam bahan pengencer akan semakin menurun. Lebih lanjut Salisbury *et al.* (1985) bahwa penurunan motilitas spermatozoa dapat disebabkan karena terjadinya penurunan pH dan *cold shock* selama penyimpanan.

Yulnawati (2008) fosfolipid berfungsi untuk memelihara integritas membran dan membentuk permukaan yang dinamis antar sel sebagai perlindungan terhadap kondisi lingkungan.

Parera *et al.* (2009) yang menyatakan bahwa pengencer yang mengandung kuning telur akan melindungi dan mempertahankan integritas selubung karena adanya lesitin dan lipoprotein.

G.1 Susu skim

Susu skim adalah bagian dari yang tersisa dari yang diambil krimnya, memiliki zat makan kecuali lemak dan vitamin. Susu skim merupakan suplemen protein yang bermanfaat karena mengandung 35,6 g kalsium dan riboflavin dalam kadar tinggi (Chamberlain, 1989). Komposisi skim terdiri dari lemak 1,0 persen, laktosa 5 persen, abu 0,8 persen dan air 90,4 persen (Buckle *et al.*, 1987).

Susu skim digunakan sebagian bahan pengencer semen karena beberapa kelebihan yaitu bahannya murah, mudah didapat, cepat dibuat dan kadar lemaknya rendah sehingga memudahkan pemeriksaan spermatozoa dibawah mikroskop (Evans dan Maxwell, 1987). Pengencer susu skim terdiri dari susu skim, glukosa, antibiotik, dan kuning telur. Fungsi dari masing-masing bahan yang terkandung dalam bahan pengencer tersebut adalah (Evans dan Maxwell 1987) :

1. susu skim, merupakan *buffer* untuk mencegah perubahan pH akibat asam laktat dari hasil spermatozoa serta mempertahankan tekanan dan keseimbangan elektrolit yang sesuai;
2. glukosa, sebagai penyedia zat makanan yang merupakan sumber energi bagi spermatozoa;
3. antibiotik (penicillin dan streptomycin), penambahan antibiotik dalam pengencer akan meningkatkan daya tahan hidup spermatozoa dan mematikan kuman *vibrio foetus* serta untuk mencegah pertumbuhan mikroorganisme;
4. kuning telur, sebagai sumber energi bagi spermatozoa dan sebagai pelindung spermatozoa terhadap *cold shock*.

Persentase spermatozoa hidup pada pengencer susu skim lebih rendah karena kandungan laktosa yang tinggi mempercepat metabolisme spermatozoa dan terjadi penumpukan asam laktat yang menyebabkan spermatozoa mati, selain itu lemak pada susu skim juga menghambat gerak spermatozoa (Suharyati dan Hartono, 2011).

Suharyati dan Hartono (2011) menyatakan bahwa persentase hidup spermatozoa pada susu skim kuning telur karena kandungan laktosa yang tinggi yang dapat mempercepat metabolisme spermatozoa sehingga terjadinya penumpukan asam laktat yang menjadi racun bagi spermatozoa sehingga banyaknya spermatozoa yang mati.

Menurut Sarwono (1995), komposisi kuning telur terdiri air, protein, lemak, karbohidrat, mineral dan vitamin. Salisbury dan Van Demark (1985) menambahkan bahwa kelebihan kuning telur ini terletak pada lipoprotein dan lesitin yang terkandung di dalamnya yang dapat mempertahankan dan melindungi integritas selubung lipoprotein dari sel spermatozoa dan mencegah *cold shock*.

Menurut Salisbury dan Van Demark (1985), proses pemanasan susu dapat melepaskan glukosa dari disakarida dan laktosa didalam susu. Susu sapi normal mengandung sejumlah glukosa tertentu yang menyediakan zat karbohidrat yang bermanfaat untuk spermatozoa dan beberapa karbohidrat yang tidak jelas identifikasinya, substansi pelindung lesitin dan substansi untuk proses oksidasi metabolisme, termasuk penguraian komponen lemak seperti gliserol dan asam-asam organik. Toeliher (1985) menambahkan bahwa kuning telur mengandung glukosa yang lebih suka dipergunakan oleh sel-sel spermatozoa untuk

metabolismenya dari pada fruktosa yang terdapat didalam semen. Pada pengencer biomed menunjukkan persentase viabilitas spermatozoa X dan Y yang cukup baik.

G.2 Andromed

Andromed adalah pengencer komersial dengan bahan dasar bebas protein hewani. Andromed merupakan bahan pengencer instan berupa cairan yang dapat digunakan dalam proses pembekuan semen. Pengencer Andromed mengandung gliserol yang berfungsi untuk menghasilkan energi dan membentuk fruktosa, sehingga menunjukkan spermatozoa yang optimum. Pengencer semen komersial ini juga mudah digunakan karena telah tersedia dalam paket siap pakai (Herdis *et al.*, 2008).

Andromed adalah pengencer yang dapat memberikan pengaruh terbaik terhadap persentase motilitas dan persentase hidup spermatozoa dibandingkan dengan susu skim (Kuswanto *et al.*, 2007). Andromed terdiri dari fosfolipid, tris-(hidroksimetil)-aminometan, asam sitrat, fruktosa, gliserol, tilosintartrat, gentamisin sulfat, spektinomisin dan linkomisin (Minitub,2001). Menurut Hammerstedt (1993), gula seperti fruktosa akan menghasilkan ATP yang sangat penting untuk kontraksi fibril-fibril pada ekor sperma yang berfungsi untuk menimbulkan pergerakan (motilitas) pada spermatozoa.

Menurut Minitub (2001), komposisi kimia bahan pengencer andromed tersusun dari beberapa bahan yang dibutuhkan oleh spermatozoa selama proses pembekuan, diantaranya natrium dan kalium. Kedua bahan tersebut berperan

dalam menjaga integritas fungsional membran plasma spermatozoa. Kalium juga berperan dalam menginduksi motilitas dan hiperaktivasi spermatozoa, serta dapat memengaruhi dayatahan hidup spermatozoa. Herdis *et al.* (2008) menyatakan bahwa pengencer andromed mengandung gliserol yang berfungsi untuk menghasilkan energi dan membentuk fruktosa sehingga menunjukkan spermatozoa yang optimum.

Pengencer andromed mengandung gliserol yang berfungsi menghasilkan energi dan membentuk fruktosa, sehingga menunjukkan spermatozoa yang optimum (Munazaroh *et al.*, 2013). Sumber lisitin didalam pengencer semen komersial andromed berasal dari ekstrak kacang kedelai, yang dapat menjalankan fungsi seperti lisitin pada kuning telur. Semua bahan yang terkandung didalam andromed tersebut merupakan bahan-bahan yang umum digunakan untuk menyusun pengencer semen selama ini. Lisitin berfungsi melindungi membran plasma sel dari pengaruh *cold shock* selama proses penolakan berlangsung (Aku, 2005).

Gliserol merupakan krioprotektan intraseluler yang telah banyak digunakan dalam bahan pengencer semen mamalia. Gliserol merupakan hasil hidrolisis lipid (trigliseraldehida) yang memiliki peran dalam melindungi sel spermatozoa dari lingkungan yang merugikan (agen protektif) (Tambing, 1999).

G.3 Biomed

Biomed merupakan salah satu bahan pengencer komersil, salah satu bahan campuran utamanya yaitu kuning telur. Menurut Hammerstedt (1993), kuning

telur mengandung *phosphatidyl choline* yang dapat melindungi membran spermatozoa dengan cara memulihkan kehilangan fosfolipid selama *cold shock* dan mencegah aliran kalsium ke dalam spermatozoa. Toelihere (1995) menambahkan bahwa kuning telur mengandung lipoprotein dan lesitin yang berperan dalam mempertahankan selubung lipoprotein spermatozoa serta mengandung glukosa yang digunakan sebagai bahan energi dalam prosen metabolisme.

Menurut Paulenz *et al.* (2003) penambahan kuning telur yang berisi fosfolipid dan lesitin ke dalam pengencer, dapat melindungi membran spermatozoa terhadap kejutan dingin. Lebih lanjut Morel (1999) menambahkan bahwa kerusakan spermatozoa pada saat preservasi yang disebabkan oleh efek *cold shock* mengubah membran spermatozoa dari konfigurasi normal ke konfigurasi kesagonal yang dapat menyebabkan kerusakan pada membran plasma spermatozoa ketika membran spermatozoa mengalami kerusakan, enzim aspartat aminotransferase (AspAT) yang merupakan enzim utama dalam mitokondria yang dapat memproduksi ATP akan dilepaskan dari sel dan masuk ke seminal plasma. Menurut Colenbrander *et al.* (1992); Arifiantini dan Purwantara (2010), kehilangan AspAT akan mengganggu produksi ATP dan mengganggu motilitas spermatozoa.

Kuning telur mengandung *phosphatidyl choline* yang dapat melindungi membran spermatozoa dengan cara memulihkan kehilangan fosfolipid selama *cold shock* dan mencegah aliran kalsium ke dalam spermatozoa (Hammerstedt, 1993).

Toelihere (1995) menambahkan bahwa kuning telur mengandung lipoprotein dan

lesitin yang berperan dalam mempertahankan selubung lipoprotein spermatozoa serta mengandung glukosa yang digunakan sebagai bahan energi dalam prosen metabolisme.

H. Pemeriksaan Makroskopis

H.1 Warna

Warna semen pada kambing yaitu putih dan krem menunjukkan konsentrasi spermatozoa tinggi. Kadang-kadang sering berwarna kuning, karena mengandung riboflavin yang disekresikan oleh kelenjar vesikula (Evans dan Maxwell, 1987).

Warna merah biasanya akibat semen tercampur dengan darah akibat adanya perlakuan pada saluran reproduksi jantan (Herdis *et al.*, 2008).

H.2 Volume

Volume semen dapat diketahui dengan menggunakan gelas penampungan yang berskala atau untuk lebih akurat dengan menggunakan pipet ukur, penampungan semen pada kambing dengan menggunakan vagina buatan akan didapatkan volume sekitar 1,0 ml tergantung pada umur, kondisi hewan, frekuensi penampungan dan keahlian dari operator (Evans dan Maxwell, 1987). Volume semen kambing per ejakulat berkisar 0,5--2,0 ml (Cole dan Cupps, 1997).

Menurut Hafez (2000), volume semen kambing berkisar 0,5--51,2 ml dengan rata-rata 1,0 ml per ejakulat. Volume semen kambing per ejakulat dipengaruhi oleh adanya perbedaan bangsa, umur, ukuran badan, nutrisi, frekuensi penampungan

dan berbagai faktor lain. Penilaian konsentrasi spermatozoa tiap milliliter semen sangat penting, karena faktor ini dipakai sebagai kriteria penentu kualitas semen dan menentukan tingkat pengencerannya. Konsentrasi yaitu jumlah spermatozoa per unit volume (per mililiter). Konsentrasi spermatozoa tiap ejakulasi berkisar antara $1,5--5,0 \times 10^9$ spermatozoa/ml.

H.3 Derajat Keasaman

Derajat keasaman semen diukur dengan pH meter atau kertas lakmus. Nilai pH semen yang normal adalah sekitar 7,0 (Partodihardjo, 1982). Derajat keasaman semen dipengaruhi oleh konsentrasi spermatozoa yang terkandung di dalamnya. Semakin tinggi konsentrasi spermatozoa, semakin rendah pH semen. Hal ini disebabkan oleh spermatozoa dalam jumlah banyak akan menghasilkan asam laktat dalam jumlah banyak pula sehingga semen semakin asam atau pH semakin rendah (Rizal dan Herdis, 2008). Variabel pemeriksaan bau semen jarang dilakukan karena tidak berhubungan dengan kualitas spermatozoa. Umumnya bau semen dikategorikan sebagai bau khas (Rizal dan Herdis, 2008).

H.4 Konsistensi

Konsistensi atau kekentalan semen segar dilihat dengan cara memiringkan tabung semen secara perlahan dan mengembalikan semen keposisi semula sehingga dapat ditentukan apakah cairan semen tersebut encer, sedang, atau kental. Semen sapi dan domba mempunyai konsistensi kental berwarna krem, sedangkan semen kuda dan babi cukup encer berwarna terang sampai kelabu. Semen cair berwarna atau

hanya sedikit kekeruhan memiliki konsentrasi sekitar 100 juta sel spermatozoa per ml dan yang jernih seperti air kurang dari 50 juta per ml (Feradis, 2010).

Konsistensi semen tergantung pada rasio kandungan spermatozoa dan seminal plasma. Konsistensi adalah derajat kekentalan yang erat kaitanya dengan konsentrasi spermatozoa.

Semen dengan konsistensi krem mempunyai konsentrasi 1.000--2.000 juta atau lebih sel spermatozoa per ml, semen cair yang berwarna atau sedikit kekeruhan konsentrasinya sekitar 100 juta sel spermatozoa per ml, dan yang jernih seperti air kurang dari 50 juta sel spermatozoa per ml (Toeliher, 1981).

I. Pemeriksaan Mikroskopis

I.1 Motilitas

Ciri utama spermatozoa adalah motilitas atau daya geraknya yang di jadikan patokan atau cara yang paling sederhana dalam penilaian semen untuk inseminasi buatan (Toelihere, 1993). Salisbury dan Van Denmark (1985) menyatakan bahwa ada tiga motilitas spermatozoa : (1) gerakan progresif. (2) gerakan berputar. (3) gerakan ditempat. Dua tipe gerakan terakhir disebabkan oleh gerak ayun-ayun ekor yang abnormal dan ditambahkan bahwa motilitas kurang dari 50% akan menghasilkan angka konsepsi yang lebih rendah.

Toelihere (1993) menyatakan bahwa motilitas spermatozoa sapi di bawah 40% menunjukkan nilai semen yang kurang baik dan sering dihubungkan dengan infertilitas. Kebanyakan pejantan fertil mempunyai 50--80% spermatozoa motil,

aktif progresif. Hafez (1987) menyatakan bahwa penilaian spermatozoa yang aktif yang bergerak atau hidup dan penilaian dilakukan pada suhu 37°C sampai 40°C.

Persentase sperma yang aktif tidak harus lebih besar dari pada 70%. Sama dengan yang diungkapkan oleh Toelihere (1993) bahwa untuk memperoleh hasil yang lebih tepat sebaiknya semen diperiksa pada suhu 37°C sampai 40°C dengan menempatkan gelas objek di atas suatu meja panas atau menggunakan mikroskop yang dipanaskan secara elektrik.

Spermatozoa yang memiliki motilitas kurang dari 60% tidak dianjurkan untuk digunakan dalam program inseminasi buatan (Kartasudjana, 2001). Menurut pendapat Garner dan Hafez (2000), motilitas individu semen segar adalah 75 % bergerak progresif, motilitas individu tersebut masih dalam kisaran normal.

Motilitas sperma kambing pada umumnya berkisar antara 75% sampai dengan 85%, tetapi kisaran tersebut tidak menjadi patokan karena beberapa jenis kambing mempunyai motilitas sperma dibawah kisaran tersebut (Ritar dan Salmon , 1982). Faktor-faktor yang mempengaruhi motilitas sperma adalah metode penampungan semen, lingkungan, penanganan dan perawatan semen sesudah penampungan, interval antara penampungan dan evaluasi semen, variasi pejantan serta musim (Evans dan Maxwell, 1987).

I.2 Konsentrasi

Konsentrasi spermatozoa adalah jumlah sel spermatozoa yang terdapat didalam satu mililiter semen. Konsentrasi spermatozoa semen kambing berkisar 2.500--5.000 juta sel/ml. Penilaian konsentrasi spermatozoa per mililiter semen sangat penting, karena akan menggambarkan sifat-sifat semen dan dipakai sebagai salah satu kriteria penentuan kualitas semen. Konsentrasi digabungkan dengan volume dan prosentase sperma motil, memberikan informasi jumlah spermatozoa per ejakulat, dengan demikian dapat mengetahui berapa jumlah betina yang dapat diinseminasi. Metode perhitungan secara langsung menggunakan alat hitung sel-sel darah merah atau hemocytometer dan kamar hitung Neubauer (Evans dan Maxwell, 1987).

I.3 Viabilitas

Persentase hidup atau spermatozoa dapat ditentukan dengan pewarnaan eosin atau eosin-negrosin. Zat warna eosin akan mewarnai spermatozoa yang mati menjadi merah atau merah muda, sedangkan zat warna negrosin memberi latar biru hitam (Toelihere, 1993). Salisbury dan VanDenmark (1985) menyatakan bahwa spermatozoa yang hidup dapat dibedakan reaksinya terhadap zat warna tertentu, spermatozoa yang dianggap mati menyerap zat warna dan spermatozoa yang hidup tidak menyerap zat warna. Toelihere (1993) menyatakan standar minimum bagi kualitas semen yang dapat dipakai untuk inseminasi buatan adalah minimal 50% spermatozoa hidup.

Hidayatullah (2007) menyatakan bahwa viabilitas spermatozoa dipengaruhi oleh kebutuhan akan nutrisi. Nutrisi akan digunakan oleh spermatozoa untuk dijadikan energi sehingga apabila kebutuhan nutrisi spermatozoa berkurang maka akan mengakibatkan viabilitas spermatozoa menurun.

I.4. Abnormalitas

Menurut Chenoweth (2005), abnormalitas spermatozoa terbagi dalam dua kategori, yakni berdasarkan urutan proses pembentukan spermatozoa (primer dan sekunder) dan berdasarkan dampaknya bagi fertilitas. Kategori kerusakan spermatozoa bersifat primer adalah yang terjadi pada saat spermatogenesis, sedangkan sekunder jika kejadiannya setelah spermiasis. Pengelompokan kelainan mayor dan minor didasarkan pada dampaknya terhadap fertilitas jantan tersebut. Kelainan mayor akan berdampak besar pada fertilitas, sebaliknya kelainan yang bersifat minor dampaknya kecil pada fertilitas. Toelihere (1993) selama abnormalitas spermatozoa belum mencapai 20% dari contoh semen, maka semen tersebut masih dapat dipakai untuk inseminasi.

Spermatozoa dibawah kondisi aerobik sangat sensitif terhadap bahaya oksidatif karena tingginya kandungan asam lemak tak jenuh dan rendahnya secara relatif level enzim antioksidan (Guamares *et al.*, 2014).

Bearden dan Fuquay (1980) mengklasifikasikan abnormalitas spermatozoa dalam abnormalitas primer dan abnormalitas sekunder. Selanjutnya juga dinyatakan bahwa bentuk-bentuk abnormalitas primer spermatozoa terdapat didalam testis

karena kesalahan spermatogenesis, faktor keturunan, penyakit, defisiensi makanan dan pengaruh lingkungan yang jelek.

Abnormalitas spermatozoa pada semen kambing sebesar 8--10% tidak berpengaruh pada fertilitas, tetapi apabila abnormalitas melebihi 25 % dari total ejakulasi maka akan berpengaruh pada fertilitas (Hafez, 2000). Kemudian Partodhiardjo (2002) menambahkan bahwa abnormalitas yang lebih dari 20 % menunjukkan kualitas spermatozoa yang jelek.

Toelihere (1993) menyatakan bahwa abnormalitas primer meliputi kepala kecil, kepala besar, kepala miring, kepala kembar, ekor bercabang, leher besar dan melipat. Sedangkan abnormalitas sekunder meliputi ekor terputus, kepala tanpa ekor, bagian tengah melipat, adanya butiran-butiran protoplasma proksimal atau distal dan akrosomal terlepas.

Putranti *et al.* (2010) tingkat abnormalitas spermatozoa merupakan faktor yang penting, karena dengan banyak spermatozoa yang normal juga memiliki viabilitas yang lebih panjang dibandingkan dengan sperma yang abnormal. Spermatozoa yang normal memiliki kemampuan fertilisasi sebelum kehilangan motilitasnya. Faktor-faktor yang mempengaruhi persentase abnormal adalah tindakan tidak hati-hati mencairkan semen dengan cairan yang tidak sama isotonisnya, *cold shock*, panas, gangguan nutrisi atau gangguan endokrin yang mempengaruhi spermatogenesis normal (Yulianti, 2006).

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 11--25 Juli 2019 di Laboratorium Balai Inseminasi Buatan Lembang, Kayuambon, Lembang, Bandung, Jawa Barat.

B. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah seperangkat alat vagina buatan (gelang karet, corong karet, tabung gelas penampung berskala), kertas *Whatman*, tabung pemisah spermatozoa, tabung *centrifuge*, gelas ukur, gelas erlenmeyer, *beaker glass*, gelas objek, pipet 5 ml, pipet 1 ml, pH meter, *centrifuge*, mikroskop, kertas lakmus, timbangan elektrik, dan *water bath*.

Bahan yang digunakan adalah sampel semen kambing Boer segar, eosin 2%, NaCl fisiologik, NaCl 3%, bahan pengencer yang terdiri dari biomed, andromed dan susu skim, *phenol red*, medium *sexing*, BSA 5 % (2 gram BSA dilarutkan dalam 60 ml medium *sexing*) dan BSA 10 % (4 gram BSA dilarutkan dalam 60 ml medium *sexing*).

C. Metode Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah semen dari tiga ekor kambing Boer berumur 5 tahun dan dengan rata-rata bobot tubuh 84 kg. Rancangan percobaan pada penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga perlakuan dan tiga ulangan yaitu :

P1 : pengencer Andromed

P2 : pengencer Susu Skim

P3 : pengencer Biomed

Berdasarkan perlakuan kandungan bahan pengencer Andromed, Susu skim, dan Biomed ditampilkakan pada tabel 1,2, dan 3.

Tabel 1. Komposisi kandungan dalam bahan pengencer Andromed

Kandungan	Jumlah
<i>Lincomicine</i>	15 mg
Fruktosa	2,16 g
Asam sitrat	1,20 g
<i>Gentamycine</i>	25 mg
<i>Tylocin</i>	15 mg
Gliserol	6,5 ml
Aquabides	100 ml

(Susilawati, 2011)

Tabel 2. Komposisi kandungan dalam bahan pengencer Susu Skim

Kandungan	Jumlah
Susu skim bubuk	10 g
Fruktosa	1ml
Asam sitrat	1,70 g
Streptomisin sulfat	0,1 g/ml
Penisilin	1000 UI
Gliserol	8 ml
<i>Buffer</i> skim antibiotik	47,5 ml
Kuning telur	2,5 ml
Aquabides	100 ml

(BIB lembang, 2019)

Tabel 3. Komposisi kandungan dalam bahan pengencer Biomed

Kandungan	Jumlah
Kuning telur	23 ml
Larutan Biomed	100 ml
Aquabides	100 ml

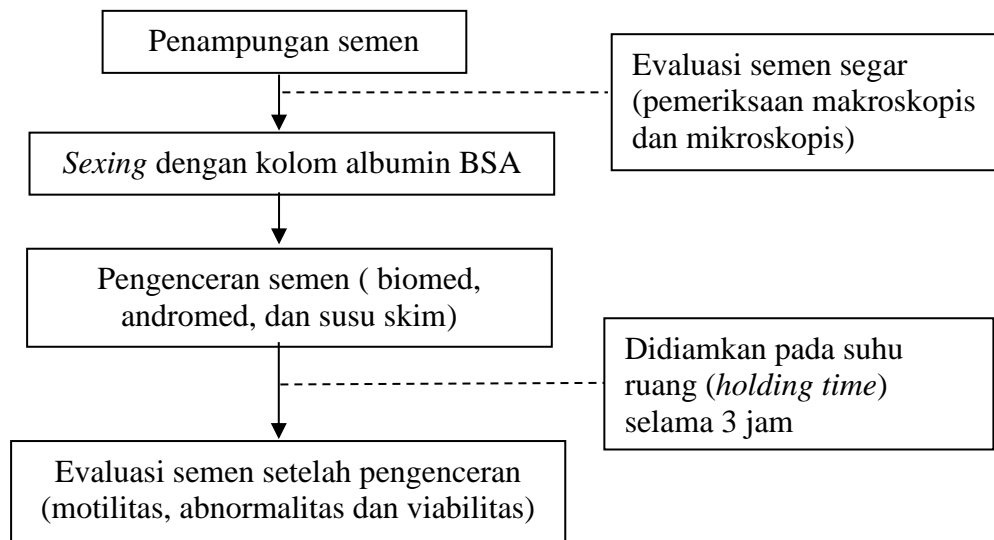
(BIB Lembang, 2019)

D. Peubah yang Diamati

Peubah yang diamati adalah motilitas, persentase hidup mati, dan abnormalitas spermatozoa kambing Boer.

E. Prosedur Penelitian

Penelitian ini menguji penggunaan berbagai macam bahan pengencer terhadap kualitas semen hasil *sexing* pada kambing Boer. Kegiatan penelitian ini terbagi dalam beberapa tahap kegiatan yaitu proses penampungan semen, evaluasi semen segar (mikroskopis dan makroskopis), *sexing* dengan menggunakan metode kolom albumin BSA, didiamkan selama 3 jam pada suhu ruang, proses pengenceran dengan tiga jenis bahan pengencer (biomed, andromed, dan susu skim), dan yang terakhir yaitu evaluasi semen sesudah pengenceran meliputi motilitas, abnormalitas dan viabilitas. Prosedur penelitian ini dijelaskan pada Gambar 2.



Gambar 2. Prosedur penelitian

E.1 Penampungan semen

Menurut Hartono *et al.* (2014), prosedur untuk melakukan koleksi dengan menggunakan vagina buatan yaitu :

1. membersihkan vagina buatan dan dikeringkan, kemudian dirangkai menjadi vagina buatan yang siap digunakan, pada saat pemasangan harus dipastikan pita karet pengikat tidak lepas;
2. memompakan udara melalui lubang air sehingga lapisan karet bagian dalam mengembang dan kondisi seperti vagina alami;
3. selubung air pada vagina buatan (rongga antara selubung luar dengan bagian dalam) diisi air yang panasnya 60--70°C, sehingga selubung menjadi tipis. Jumlah air yang dimasukkan serta panjang dan lebar vagina buatan bervariasi sesuai penjantan yang dikoleksi;

4. selubung air diolesi dengan vaselin dengan bantuan *stik glass* sampai setengah bagian atas ujung vagina yang terbuka (vaselin yang dipakai tidak boleh terlalu keras atau terlalu encer). Temperatur vagina buatan pada waktu koleksi harus menunjukkan antara 40--52°C;
5. betina pemancing dimasukan ke dalam kandang jepit, kolektor berdiri disamping kanan memegang vagina buatan pada tangan kanan dan mengarahkannya kira-kira 45° ke atas garis horizontal pemancing;
6. pejantan yang akan ditampung semennya dibersihkan pada daerah ventral abdomen dan preputium. Pejantan dikeluarkan menuju kandang dan dibiarkan melakukan rangsangan terhadap pemancing;
7. pada saat pejantan melakukan penunggangan dan ereksinya sudah sempurna (lakukan *false mount* agar hasilnya maksimal), penampungan siap dilakukan. Dengan telapak kiri yang mengarah ke atas, preputium digenggam dan penis diarahkan ke vagina buatan dengan ujung *glans* penisnya disentuh pada ujung vagina buatan. Secara normal pejantan akan mendorong penisnya ke dalam vagina buatan sampai terjadi ejakulasi. Ejakulasi ditandai dengan dorongan tiba-tiba ke depan dan kaki-kaki belakang pejantan terangkat serta badannya membungkuk;
8. setelah ejakulasi, pejantan akan bergerak turun menarik penisnya, setelah penis keluar dari vagina buatan segera dibalikan vertikal dengan tabung penampung berada dibawah atau vagina buatan diputar-putar supaya semen mengalir ke dalam tabung penampung;
9. semen hasil koleksi hendaknya dilindungi terhadap *shock* temperatur (terlalu dingin atau terlalu panas) dan sinar matahari langsung, dengan cara

memberikan perlindungan terhadap tabung penampung. Semen hasil koleksi kemudian dilakukan pemeriksaan kualitasnya baik makroskopis ataupun mikroskopis;

10. setelah selesai penampungan semen, semua peralatan dibersihkan kemudian dikeringkan dan disimpan.

E.2 Pengamatan kualitas semen segar

E.2.1 Motilitas massa

Tahap pemeriksaan motilitas massa dilakukan sesuai dengan langkah-langkah berikut :

1. setetes semen segar ditetaskan pada gelas obyek;
2. memeriksa dengan menggunakan mikroskop dengan perbesaran lemah (10x10);
3. menentukan motilitas spermatozoa sesuai dengan kriteria yang ada.

Penilaian gerak massa pada spermatozoa yang nampak pada pengamatan menggunakan mikroskop yaitu :

1. +++ : sangat baik; terlihat gelombang-gelombang besar, banyak, gelap, tebal, dan aktif bagaikan gumpalan awan hitam dekat waktu hujan yang bergerak cepat berpindah-pindah tempat;
2. ++ : baik; bila terlihat gelombang-gelombang kecil, jarang, tipis, kurang jelas, dan bergerak lamban;
3. + : sedang; tidak terlihat gelombang melainkan hanya gerakan-gerakan individual aktif progresif;

4. 0/N : buruk; *necrospermia*; bila hanya sedikit atau tidak ada gerakan individual.

E.2.2 Motilitas individu

Tahap pemeriksaan motilitas individu dilakukan sesuai dengan langkah-langkah berikut :

1. Setetes semen segar diteteskan pada gelas obyek kemudian ditutup dengan gelas penutup;
2. memeriksa menggunakan mikroskop dengan perbesaran (10x10) atau perbesaran sedang (10x40);
3. menentukan persentase motilitas spermatozoa sesuai dengan kriteria yang ada.

Penilaian gerak individu yang nampak pada pengamatan menggunakan mikroskop yaitu :

1. 0 : spermatozoa tidak bergerak;
2. 1 : gerakan berputar ditempat; 0--30% bergerak progresif;
3. 2 : gerakan berayun atau melingkar; 30--50% bergerak progresif;
4. 3 : 50--80% bergerak progresif;
5. 4 : 80--90% bergerak progresif;
6. 5 : 100% bergerak sangat progresif.

E.2.3 Pengamatan spermatozoa hidup

Tahap pemeriksaan spermatozoa hidup dilakukan sesuai dengan langkah-langkah berikut :

1. meneteskan satu atau dua tetes eosin 2% pada ujung gelas obyek yang bersih;
2. meneteskan semen segar dengan ukuran yang sama dengan zat pewarna pada ujung gelas obyek yang sama;
3. menempelkan ujung gelas obyek yang lain atau ujung gelas penutup pada kedua cairan sehingga keduanya bercampur, kemudian didorong ke ujung gelas obyek;
4. preparat ulas tersebut kemudian dikeringkan dengan cara menggerakkan diatas nyala lilin atau pemanas *buncen*;
5. setelah kering, memeriksa spermatozoa yang hidup dan mati dengan menggunakan mikroskop pada perbesaran sedang (10x40) atau kuat (10x100, bila perlu gunakan minyak emersi). Spermatozoa yang hidup tetap tidak bewarna, sedangkan spermatozoa yang mati akan berwarna merah atau merah muda. Jumlah spermatozoa yang dihitung minimal 200 sel;
6. menghitung persentase spermatozoa hidup dengan rumus:

$$\text{Sperma hidup (\%)} = \frac{X - Y}{X} \times 100 \%$$

Keterangan : X : jumlah sel spermatozoa keseluruhan

Y : jumlah sel spermatozoa mati

E.2.4 Pengamatan abnormalitas

Tahap pemeriksaan abnormalitas dilakukan sesuai dengan langkah-langkah berikut :

1. meneteskan satu atau dua tetes eosin 2% pada ujung gelas obyek yang bersih;
2. meneteskan semen segar dengan ukuran yang sama dengan zat pewarna pada ujung gelas obyek yang sama;
3. menempelkan ujung gelas obyek yang lain atau ujung gelas penutup pada kedua cairan sehingga keduanya bercampur, kemudian didorong ke ujung gelas obyek;
4. preparat ulas tersebut kemudian dikeringkan dengan cara menggerakkan diatas nyala lilin atau pemanas *buncen*;
5. setelah kering, memeriksa spermatozoa yang normal dan abnormal dengan menggunakan mikroskop pada perbesaran sedang (10x40) atau kuat (10x100, bila perlu gunakan minyak emersi). Jumlah spermatozoa yang dihitung minimal 200 sel;
6. menghitung persentase spermatozoa abnormal dengan rumus :

$$\text{Abnormalitas (\%)} = \frac{Y}{X} \times 100\%$$

Keterangan : X : jumlah sel spermatozoa keseluruhan

Y : jumlah sel spermatozoa abnormal

E.3 *Sexing* dengan metode kolom albumin BSA

Menurut BIB Lembang (2019), *sexing* dengan metode kolom albumin BSA dilakukan sebagai berikut :

1. menyiapkan BSA dengan kandungan 10% dan 5% masing-masing sebanyak 2 ml, kemudian simpan di *water bath*;
2. panaskan juga medium *sexing* di *water bath*;
3. kemudian sperma segar ditambahkan dengan medium *sexing*;
4. menambahkan masing-masing 1 ml semen segar ke dalam BSA dengan kandungan 10% dan 5% sehingga menjadi 20 tabung;
5. diamkan selama 45 menit;
6. setelah dibiarkan selama 45 menit akan terbentuk 3 lapisan;
7. lapisan paling atas diambil 1 ml lalu dibuang, lapisan yang tengah adalah sperma X dan yang paling bawah adalah sperma Y;
8. kemudian lapisan sperma X digabung menjadi satu dari 20 botol, begitu juga dengan sperma Y, selanjutnya masukan dalam tabung sentrifus;
9. menambahkan medium *sexing* secukupnya pada tabung sentrifus sperma X dan Y ;
10. melakukan sentrifus pada masing-masing sperma X dan Y selama 10 menit dengan kecepatan 1.800 rpm pada suhu 25°C;
11. setelah itu supernatan dibuang, endapan diambil untuk masing-masing sperma X dan Y;
12. kemudian endapan sperma X dan Y masing-masing ditambahkan pengencer \pm 1 ml setiap masing-masing tabung;
13. didiamkan selama 3 jam.

E.4 Pembuatan bahan pengencer

E.4.1 Susu skim

Menurut BIB Lembang (2019), pembuatan pengencer susu skim dilakukan sebagai berikut :

1. Pembuatan *buffer* skim

- a. menyiapkan alat (kompor pemanas, labu didih, *beaker glass*, corong, kertas saring, gelas ukur 100 ml, spatula, termometer, timbangan analitik, *tissue*) dan bahan (skim bubuk, aqua bidestilata);
- b. menimbang skim bubuk sebanyak 10 g;
- c. menyiapkan labu didih dan pemanasnya;
- d. menyiapkan aqua bidestilata sebanyak 100 ml dan memasukan sebagian ke dalam labu didih;
- e. mencampurkan susu skim dan aqua bidestilata lalu diaduk sampai homogen;
- f. memanaskan didalam labu didih sampai suhu mencapai 92°C--95°C selama 12 menit;
- g. mematikan pemanas setelah mencapai suhu 92°C;
- h. mendinginkan larutan skim dan menyimpan disuhu ruang.

2. Pembuatan *buffer* antibiotik

- a. menyiapkan alat (gelas ukur) dan bahan (penicillin, streptomycin, aquabidest, dan larutan *buffer* skim);
- b. mencampurkan streptomycin 0,1 g dan penicillin 1.000 IU, kemudian menambahkan aquabidest samapai volume 3 ml;

- c. menghomogenkan larutan, kemudian mencampurkan larutan *buffer* antibiotik dengan *buffer* skim;
- d. menghomogenkan larutan;
- e. *buffer* skim antibiotik siap digunakan.

3. Pembuatan pengencer *part A*

- a. menyiapkan alat (gelas ukur, kertas saring) dan bahan (*buffer* skim antibiotik, dan kuning telur);
- b. memasukan *buffer* skim antibiotik ke dalam gelas ukur sebanyak 47,5 ml;
- c. menyiapkan kuning telur dan memisahkan kuning telur dari putih telur dengan menggunakan kertas saring, selaput kuning telur dipecahkan dan diambil kuning telurnya, kemudian dimasukan ke dalam *beaker glass*;
- d. menuangkan kuning telur ke dalam gelas ukur yang berisi *buffer* skim antibiotik sebanyak 2,5 ml;
- e. menghomogenkan larutan dengan cara dikocok.

4. Pembuatan pengencer *part B*

- a. menyiapkan alat (gelas ukur, *beaker glass*, kertas saring) dan bahan (gliserol, *buffer* antibiotik, kuning telur, dan fruktosa);
- b. menambahkan *buffer* skim antibiotik sebanyak 38,5 ml kedalam gelas ukur;
- c. menuangkan gliserol ke dalam gelas ukur sebanyak 8 ml secara perlahan;
- d. menyiapkan kuning telur lalu membersihkan dari putih telur menggunakan kertas saring, kemudian dimasukan ke dalam *beaker glass*;

- e. menambahkan kuning telur ke dalam gelas ukur yang telah berisi *buffer* skim antibiotik sebanyak 2,5 ml;
- f. menambahkan fruktosa 1 ml ke dalam larutan;
1. menghomogenkan larutan dengan cara dikocok hingga merata (perbandingan pengencer *part* A dan pengencer *part* B dicampurkan dengan perbandingan 1:1).

E.4.2 Andromed

Pengencer Andromed terdiri dari aquabidest, fruktosa, gliserol, asam sitrat, buffer, phosifolipid, spectynomicine, lincomicine 15 mg, tylocin 15 mg, dan gentamycine 25 mg (Susilawati, 2011). Penggunaan pengencer Andromed dilakukan dengan pencampuran antara Andromed dan aquabidest dengan perbandingan 1 : 4.

E.4.3 Biomed

Menurut BIB Lembang (2019), pembuatan pengencer biomed dilakukan sebagai berikut :

1. menyiapkan alat (gelas ukur dan kertas saring), dan bahan (larutan biomed dan kuning telur);
2. menuangkan larutan biomed ke dalam gelas ukur sebanyak 100 ml;
3. menyiapkan kuning telur lalu membersihkan dari putih telur menggunakan kertas saring;
4. memasukan kuning telur ke dalam gelas ukur yang telah berisi larutan biomed sebanyak 23 ml;

5. kemudian menghomogenkan larutan dengan cara dikocok \pm selama 15 menit.

E.5 Pengenceran semen

Menurut BIB lembang (2014), pengenceran semen dilakukan sebagai berikut :

1. melakukan proses koleksi atau penampungan semen;
2. kemudian dilakukan evaluasi semen segar secara makroskopis dan mikroskopis;
3. setelah itu dilakukan proses *sexing* pada semen (semen dari satu ekor kambing dibagi tiga);
4. selanjutnya dilakukan pengenceran setelah semen dilakukan proses *sexing* dengan jenis bahan pengencer yang berbeda (Andromed, Biomed, dan Susu skim);
5. mengencerkan dan dibiarkan pada suhu ruang 27--28°C (*holding time*) selama 3 jam;
6. setelah itu diamati motilitas, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa.

F. Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis ragam pada taraf nyata 5% (Anova) dan apabila berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji Duncan (Steel dan Torrie 1993).

V. SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini maka dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat pengaruh nyata ($P > 0,05$) penggunaan bahan pengencer andromed, susu skim, dan biomed terhadap motilitas, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa hasil *sexing*.

B. Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini, saran yang dapat diberikan adalah :

1. pengencer andromed, susu skim, dan biomed dapat digunakan sebagai bahan pengencer spermatozoa untuk mempertahankan kualitas spermatozoa;
2. perlu diadakan penelitian lebih lanjut terhadap penggunaan berbagai macam bahan pengencer terhadap kualitas semen hasil *sexing* pada kambing Boer serta dapat diaplikasikan untuk inseminasi buatan.

DAFTAR PUSTAKA

- Achlis, R., A. Husni, S. Hidanah, dan P. Srianto. 2013. Kualitas semen beku kambing Peranakan Etawa dalam berbagai macam pengencer. *Media Veteriner* 6(1): 69--74.
- Afiati, F. 2004. Proporsi dan karakteristik spermatozoa x dan y hasil separasi kolom albumin. *Media Peternakan* 27(1): 16--20.
- Aires, V.A., K. D. Hinsch, F.M. K Bogner, S. M. Schloesser, and E. Hinsch. 2003. Invitro and in vivo comparison of egg yolk-based and soybean lecithinbased extenders for cryopreservation of bovine semen. *Journal Theriogenology* 60(2): 281--288.
- Aku, A.S. 2005. Preservasi dan Kriopreservasi Semen Domba Garut (*Ovis Aries*) dalam Berbagai Jenis Pengencer Berbasis Lesitin. Tesis. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Aku, A.S., N. Sandiah, dan P.D. Sadsoeitoeboen. 2007. Manfaat lisitin nabati pada preservasi dan kriopreservasi semen: Suatu Kajian Pustaka. *Journal Animal Product* 9(1): 49--52.
- American Boer Goat Association. 2001. Standard for Improved Boer Goat. <http://www.abga.org/breedinfo.html>. Diakses 18 Oktober 2019.
- Arifiantini, R. I. dan B. Purwantara. 2010. Motility and viability Frisien Holsien spermatozoa in three different extender stored at 5°C. *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture* 35(4):222-226.
- Astuti, E. M. 2017. Pengaruh penambahan sari buah tomat (*Solanum Lycopersium*) sebagai pengencer alami terhadap kualitas penyimpanan spermatozoa sapi Bali (*Bos sondaicus*). *Jurnal Bionatur* 23(18) : 129--139.
- Balai Inseminasi Buatan Daerah Lampung Tengah. 2012. Standar Operasional Prosedur. BIBD Lampung Tengah. Lampung.
- Balai Inseminasi Buatan Lembang. 2019. Perkembangan Inseminasi Buatan di Indonesia. Tersedia pada <http://biblembang.Ditjenpkh.pertanian.go.Id./read/256/perkembangan-inseminasi-buatan-di-indonesia>. Diakses 21 Oktober 2019.

- Bearden, H. J. and J. W. Fuquay. 1980. Applied Animal Reproduction. Reston Publishing Company, Inc. A Prentice-Hall company. Reston.
- _____. 1984. Applied Animal Reproduction 2 Edition. Reston Publishing Company, Inc. A Prentice-Hall company. Reston. Virginia.
- _____. 2000. Applied Animal Reproduction. Edisi 5. Prentice Hall. Upper Saddle River. New Jersey.
- Buckle, K. A., R. A., Edwards, G. H., Fleet dan Wotton, M. 1987. Ilmu Pangan. Penerjemah Hari Purnomo dan Adiono. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Chamberlain, A. 1989. Milk Production in the Tropics. Longman Scientific and Technical. UK.
- Carter, D. C. dan J.X. Ho. 1994. Advances in Protein Chemistry. [http://doi.org/10.1016/50065-3233\(08\)60640-3](http://doi.org/10.1016/50065-3233(08)60640-3). Diakses 4 Oktober 2019.
- Chenoweth, P.J. 2005. Genetic sperm defects. *Journal Theriogenology* 11(64): 457--468.
- Cole, E. J. and P. I. Cupp. 1997. Reproduction in Domestic Animal. Edisi 3. Academic Press, Inc. New York. San Francisco. London.
- Colenbrander, B., H. Puyk, A.R, Zandee and J. Parlevleit. 1992. Evaluation of the Stallion for Breeding. In: Rodriguez-Martinez H, Einarson S (Eds). Proceeding of the Symposium at the 1st Meeting on the Veterinary Associations of the Nordic Countries, Uppsala Sweden, 1--2 Oct. 1992. Uppsala: *Journal of the Veterinary Associations of the Nordic Countries* Pp 29--38.
- Curvale, R. A. 2009. Buffer capacity of Bovine Serum Albumin (BSA). *The Journal of the Argentine Chemical Society* 97--175.
- Dapawole, R. R. 2014. Preservasi dan Kriopreservasi Semen Babi dalam Pengencer BTS dan MIII yang Disuplementasi dengan dan Tanpa Trehalosa. Tesis. Institut Pertanian Bogor.
- Devendra, C., dan M. Burns. 1994. Produksi Kambing di Daerah Tropis. Institut Teknologi Bogor. Bandung.
- Drouineaud, V., P. Sagot, L. Faivre, F. Micheland and C. Jimenez. 2003. Birth after intracytoplasmic injection of epididymal sperm from a man with congenital bilateral absence of the vas deferens who had a robertsonian translocation. *Journal Fertil Steril* 79 (Suppl 3):1649--1651.

- Ducha, N., T. Susilawati, Aulanni'am, dan S. Wahyuningsih. 2013. Motilitas dan viabilitas spermatozoa sapi Limousin selama penyimpanan pada refrigerator dalam pengencer CEP-2 dengan suplementasi kuning telur. *Jurnal Kedokteran Hewan* 7(1): 5--8.
- Erasmus, J. A. 2000. Adaptation to various environments and resistance to disease of the improved Boer goat. *Journal Small Ruminant Research*. 36(20): 179--187.
- Ericsson, R.J. and R. H. Glass. 1982. Functional Differences Between Sperm Bearing The X And Y Chromosomes. Di dalam R.P. Amann dan G.E. Seidel, Jr. (ed.). *Prospects for Sexing Mammalian Sperm*. Colorado Associated University Press. Boulder. Colorado-USA.
- Evans, G. And W. M. C. Maxwell. 1987. *Salamons Artificial Insemination of Sheep and Goats*. Butterworths. Sydney.
- Feradis. 2010. *Bioteknologi Reproduksi pada Ternak*. Alfabeta. Bandung.
- Foote, R. H. 1980. *Artificial Insemination in Reproduction in Farm Animal*. Edisi 4. Hafez, E.S.E (ed). Lea and Febiger. Philadelphia.
- Foster, J. F. V., M. Rosenoer., M. Oratz., and M. A, Rothschild. 1977. Some Aspects of The Structure and Conformational Properties of Serum Albumin. *Albumin Structure. Function and Uses*. Pergamon Press. New York. 53--84.
- Friedli, G. L. 2006. Interaction of SWP With Bovine Serum Albumin (BSA). <http://www.friedli.com/research/PhD/chapter5.html>. Diakses 04 November 2019.
- Gadea, J. 2003. Pigindustry-semen extenders used in the artificial insemination of swine.A Review. *Spanish Journal of Agricultural Research*. 1(27):17--27.
- Garner, D. L., and E. S. E. Hafez. 2000. Spermatozoa and Seminal Plasma. In *Reproduction in Farm Animals*. Edited by E. S. E. Hafez. 7 th Edition. Lippincott Williams and Wilkins. Maryland. USA.
- Gonzalez. F.L.,and V. Levi. 2003. *Biochemistry and molecular biology education*. 31: 319.
- Graves, J. A. M. 1994. *Mammalia Sex-Determining Genes in the Difference Between the Sexes*, Short, R. V. dan Balaban, E. (Ed). Camride University press. London.
- Guamares, A.C.G., F.G. Leivas, F.W. Santos, E.B. Schwenger, A.B. Giotto, Machado., C.I.U. Goncalves., C.G.M, Folichini and D.S. Brum. 2014.

Reduction of centrifugation force in discontinuous percoll gradientt increasesin in vitro fertilization rates without reducing bovine sperm recovery. *Journal Animal Science* 23(146): 103--110.

Hadiyahturrahmah. 2007. Waktu motilitas dan viabilitas spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio L*) pada beberapa konsentrasi larutan fruktosa. *Jurnal Bioscientiae* (4).

Hafez, E.S.E. 1987. *Reproduction in Farm Animals*. Edisi 5. Lea dan Febiger. Philadelphia.

_____. 1993. Semen Evaluation. In : *Reproduction In Farm Animal*. 6th Edition. Lea and Febiger. Philadelphia. United State of America.

_____. 2000. Semen Evaluation. In: *Reproduction In Farm Animals*. Edisi 7. Lippincott Wilians and Wilkins. Maryland. United State of America.

_____. 2004. X and Y Chorosome Bearing Spermatozoa. In *Reproduction In Farm Animal*. Lea and Febiger. Philadelphia. United State of America.

Hammersted, R. 1993. *Maintenance of Bioenergetic in Sperm and Prevention of Lipid Peroxidation*. M. J. D'occhio. Australia.

Hartono, M., P. E. Santosa., S. Suharyati, dan Siswanto. 2014. *Penuntun Praktikum Teknologi Reproduksi Ternak*. Jurusan Peternakan. Universitas Lampung.

Herdis, M., Surachman, M., Yulnawati, M., Rizal, H., dan Maheshwari. 2008. Viabilitas dan keutuhan membran plasma spermatozoa epididimis kerbau belang pada penambahan maltosa dalam pengencer andromed[®]. *Journal Animal Agriculture* 33(2): 101--106.

Henri. 1992. *Usaha Mengubah Rasio Sperma X dan Y dengan Metode Kolom menggunakan Larutan Bovine Serum Albumin (BSA) dan Penilaian Angka Kebuntingan Serta Perbandingan Jenis Kelamin Anak Pada Kambing*. Tesis. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Hidayahturrahmah. 2007. Waktu Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Ikan Mas (*Cyprinus carpio L*) Pada Beberapa Konsentrasi Larutan Fruktosa. *Bioscientiae*. Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Lambung Mangkurat 4 Hal: 11.

Johnson, L.A., and G. E. J. R. Seidel. 1999. *Current Status of Sexing Mammalian Sperm*. Theriogenology. Elsevier Science Inc. New York.

Junianto, L., B. Sutiono, dan S. Kimiati. 2000. Pengaruh pengencer semen dengan berbagai kuning telur unggas terhadap motilitas dan daya hidup sperma ayam kampung. *Journal Animal Agriculture* (2) 2: 30--34.

- Kaabi, M. 2003. Effect of epididymis handling conditions on the quality of ram spermatozoa recovered postmortem. *Journal Theriogenology* 5(60): 1249--1259.
- Kaiin, E.M., and Rasdik. 2005. Breeding Soundness Evaluation of Bulls. <http://www.fao.org>.
- Kaiin, E.M., Said.S., dan Tappa.B. 2008. Kelahiran anak sapi hasil fertilisasi secara in vitro dengan sperma hasil pemisahan. *Media Peternakan* 31 (1): 22--28.
- Kartasudjana. R. 2001. Teknik Inseminasi Buatan Pada Ternak. Jakarta; Departemen Pendidikan Nasional.
- Kongraksawech, T. Vázquez-Landaverde, P. Huerta-Ruelas, J., and Torres, J. 2007. Ionic Strength and pH Effects on Optical Thermographs for Bovine Serum Albumin (BSA). *Journal Cienciy Tecnologia Alimentaria* 5(4) 259--264.
- Kuswanto, S. Suharyati, dan P.E.Santoso. 2007. Pengaruh Penggunaan Andromed, Stock Solution, dan Susu Skim Sebagai Bahan Pengencer Terhadap Kualitas Semen Cair Sapi Limousin Selama Penyimpanan. Kumpulan Abstrak Skripsi. Jurusan Peternakan. Fakultas Pertanian. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Lewis, R. J. 1993. Hawley's Condensed Chemical Dictionary. Van Nostrand Reinhold Co. New York 12 (30).
- Malan, S.W. 2000. The Improved Boer Goat. *Small Ruminant Research*. (36):165--170.
- Mardiana. 2017. Perbandingan pengencer andromed, susu skim dan pengencer alami terhadap kualitas spermatozoa sapi bali (*Bos Sondaicus*). *Jurnal Bionatur* (18) : 21--32.
- Masyitoh, H., T.W. Suprayogi., R.N. Praja, P. Srianto, S.P. Madyawati, dan A.L. Saputro. 2018. Persentase motilitas dan viabilitas spermatozoa kambing Saper dalam pengencer tris kuning telur dan susu skim kuning telur *before freezing*. *Jurnal Veteriner* 1(3):105--112.
- Maxwell, W. M., C. G. Mendoza, and I. G. White. 1984. Postthawing Survival of Motile Ram Sperm After Isolation by Layering on Protein Column. *Journal Theriogenology* 21:(4).
- Michnik, A., K. Michalik, and Z. Drzazga. 2005. Stability of bovine serum albumin at different pH. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 3(80) : 399--406.

- Minitub. 2001. Certificate Andromed. Minitub Abfullund Labortechnik GmbH and Co KG. Germany.
- Morel, D. M. C. G. 1999. Equine Artificial Insemination. Wallingford. Cabi Publishing.
- Munazaroh, A.M., Wahyuningsih, S., dan Ciptadi, G. 2013. Uji kualitas spermatozoa kambing Boer hasil pembekuan menggunakan *mr. frosty*[®] pada tingkat pengenceran andromed yang berbeda. *Jurnal Ternak Tropika* 4(2):63--71.
- Nasich. 2010. Analisis Fenotip dan Genotip Kambing Hasil Persilangan Antara Pejantan Kambing Boer Dengan Induk Kambing Lokal. Program Pascasarjana Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Malang.
- Nath, L.K., and S. K. Dutta. 1991. Extraction and purification of curcain, a protease from the latex of *Jatropha curcas* L. *J. Pharm. Journal Pharmacol* (43) : 111--114.
- Nalley, W. M. M., dan R. I. Ariftiantini. 2010. Penggunaan Berbagai Jenis Kuning Telur Ayam Dalam Pengencer Tris Terhadap Kualitas Semen Cair Domba Lokal. Dalam: Peran Teknologi Reproduksi Dalam Rangka Swasembada Pangan Nasional. Prosiding Seminar Nasional; Bogor 6--7 Oktober 2010. Bogor (ID): Bagian Reproduksi dan Kebidanan, Departemen Klinik, Reproduksi, dan Patologi. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor 50--52.
- Pamugkas, D., L. Affandhy, A. Rasyid, D. B. Wijono, dan T. Susilawati. 2003. Teknologi Pemisahan Spermatozoa X dan Y Sapi Potong Skala Laboratorium. Laporan Penelitian. Loka Penelitian Sapi Potong
- Parera, F., Z., Prihatin, D.F. Souhoka dan M. Rizal. 2009. Pemanfaatan sari wortel sebagai pengencer alternatif spermatozoa epididimis sapi Bali. *Journal Animal Agriculture* 34(1).
- Partodihardjo, S. 1992. Ilmu Reproduksi Ternak. Mutiara Sumber Widya. Jakarta.
- _____. 2002. Fisiologi Reproduksi Hewan. Mutiara Sumber Widya. Institut Pertanian Bogor.
- Paulenz, H., L. So' derqui, T. Adnoy, O. H. Fossen, and K. A. Berg. 2003. Effect of milk and trisbased extenders on the fertility of sheep inseminated vaginally once or twice with liquid semen. *Journal Theriogenology* 7(60) : 759--766.
- Peters, J. R. T. 1995. All about Albumin Biochemistry, Genetics, and Medical Applications, Edisi 1. Academic Press. California. USA. 14 (17).

- Pineda, M. H. 1989. The Biologi of Sex. In Veterinary Endocrinology and Reproduction. Edisi 4. Mc Donald, L. E. and M. H. Pineda. (Editors) Lea dan Febiger. Philadelphia.
- Pubiandara, S. 2016. Pengaruh Penambahan Dosis Rafinosa Dalam Pengencer Sitrat Kuning Telur Terhadap Motilitas, Persentase Spermatozoa Hidup dan Abnormalitas Spermatozoa Sapi Ongole. Skripsi. Universitas Lampung.
- Putnam, F.W. 1975. The Plasma Proteins: Structure, Function and Genetic Control. Academic Press. New York.
- Putranti, O. D., Kustono, Ismaya. 2010. Pengaruh penambahan crude tanin pada sperma cair kambing Peranakan Etawa yang disimpan selama 14 hari terhadap viabilitas spermatozoa. *Buletin Peternakan* 34(1):1--7.
- Rani, K. 2012. Biochemical Properties of Bovine Serum Albumin. <http://www.biotecharticles.com/Biology-Article/Biochemical-Propertiesof-Bovine-Serum-Albumin-1515.html>. Diakses 05 November 2019.
- Ritar, A.J., S. Salmon. 1982. Effects of seminal plasma and of its removal and of egg yolk in the diluent on the survival of fresh and frozen-thowed spermatozoa of the Angora goat. *Australia Journal Biology Science* 2(35) : 305--312.
- Rizal M., dan Herdis. 2008. Inseminasi Buatan pada Domba. Rineka Cipta. Jakarta.
- Salisbury, G.W., N.L. VanDenmark. 1985. Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi. Penerjemah R. Januar. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Sarwono, B. 1995. Pengawetan Telur Segar. Kanisius. Yogyakarta.
- Shiple, T., L. Shipley. 2005. Why you should raise Boer goats Meat for the future. Tersedia di: <http://www.Indonesiaboergoat.com>.
- Siciliano L, V., Maeciano, and A. Carpino. 2008. Proteosome-like vesicles stimulate acrosome reaction of pig spermatozoa. *Jurnal Reproduksi Biologi Endocrinol* 6(5) : 1--7.
- Sigma. 2000. Albumin From Bovine Serum. www.sigma-aldrich.com.
- Siregar, T. N., Hamdan. 2004. Evaluasi daya tahan hidup spermatozoa kambing Peranakan Ettawa dalam beberapa pengencer sederhana. *Jurnal Sains Veteriner*. 22(2) : 1--5.
- Soeparna. 1984. Study Biologi Reproduksi Kambing Kacang Jantan Muda. Disertasi. Fakultas Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

- Solihati, N., S.D. Rasad, and A. Yusrina. 2017. Evaluation the natural proportion of X—Y chromosome bearing sperm of West Java Local Ram using morfometric methode. Proceeding 7th International Seminar on Animal Production (ISTAP). Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta
- Somarny.W. W.M.Z., Y. J. Tan, M. Tasol, S. Yasmi, Y. Mussadin, and J.A. Johari. 2011. Separation of y-chromosome bearing bulls spermatozoa using an albumin gradient technique.. *Journal Animal Science* (14):13--19.
- Souhoka D. F., M. J. Matatula, M. M. M. Nalley, dan M. Rizal. 2009 Laktosa mempertahankan daya hidup spermatozoa kambing Peranakan Etawah yang dipreservasi dengan plasma semen domba Priangan. *Jurnal Veteriner* 10 (3) : 135--142.
- Steel, R.G.D dan J.H. Torrie. 1993. Prinsip dan Prosedur Statistika. Terjemahan Sumantri, B. Gramedia. Jakarta.
- Suharyati, S., dan M. Hartono. 2011. Preservasi dan krioprotektan semen sapi Limosin dalam berbagai bahan pengencer. *Jurnal Kedokteran Hewan* 5(2):53--58.
- Sukra, Y., L., Rahardja, dan I. Djuwita. 1989. Embriologi I. Depdikbud – Dirjen Pendidikan Tinggi PAU Ilmu Hayat. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Susilawati, T., Hermanto, Srianto, dan Yulianti. 2002. Pemisahan spermatozoa X dan Y pada kambing menggunakan gradien putih telur pada pengencer tris dan tris kuning telur. *Jurnal Ilmu-ilmu Hayati* 14(2): 176--181.
- Susilawati, T. 2011. Spermatozoatology. Universitas Brawijaya Press. Malang
- _____. 2014. *Sexing spermatozoa*. Hasil penelitian laboratorium dan aplikasi pada sapi dan kambing. Universitas Brawijaya Press. Malang.
- Susilawati, T., Sumitro, S. B. Harjopranjoto, S. Mantara, dan Y. Nuryadi. 1999. Pola kapasitas spermatozoa x dan y sapi hasil pemisahan menggunakan filtrasi sephadex dan sentrifugasi gradien densitas percoll. *Jurnal Penelitian Ilmu-Ilmu Hayati* 5(11): 29--40.
- Takdir, M., Ismaya, dan S. Bintara. 2017. Proporsi x dan y, viabilitas dan motilitas spermatozoa domba sesudah pemisahan dengan putih telur. *Buletin Peternakan*. 41 (01): 1--7.
- Tambing, S.N. 1999. Efektifitas Berbagai Dosis Gliserol di Dalam Pengencer Tris dan Waktu Ekuilibrasi Terhadap Kualitas Semen Beku Kambing Peranakan Etawa. Tesis. Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.

- Ted dan Shipley. 2005. Mengapa Harus Memelihara Kambing Boer “ Daging Untuk Masa Depan”. Malang. Indonesia.
- Toelihere, M. R. 1981. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Angkasa. Bandung.
- _____. 1993. Inseminasi Buatan Pada Ternak. Angkasa. Bandung.
- _____. 1995. Fisiologi Reproduksi Pada Ternak. Cetakan ke-10. Angkasa. Bandung.
- Utomo, S., dan Sumaryati. 2000. Pengaruh Suhu Penyimpanan 5°C Terhadap Sperma Kambing dan Domba Dengan Pengencer Susu Skim. *Buletin Pertanian dan Peternakan* 8(2):70-79.
- Walson, P. F., C. A. Matin. 1975. The influence of same fraction of egg yolk on the survival of ram spermatozoa at 5°C. *Journal Reproduction. Fertil Dev* 8(69): 856--857.
- Warmington, B.G., A.H.Kirton. 1990. Genetic and non-genetic influences on growth and carcass traits of goats. *Small Ruminant Research* (3): 147--166.
- Wildeus, S. 1995. Reproductive Management of The Meat Goat. [Http://Goat.Clemson.Edu/NC%20Handbook/reproduction.Htm](http://Goat.Clemson.Edu/NC%20Handbook/reproduction.Htm)
- Wong, S. S. 2000. Chemistry of Protein Conjugation and Cross-linking. 7,8,10, CRC Press. New York.
- Yamasaki, M., Yano, H., and, Aoki. 1990. Differential scanning calorimetric studies on bovine serum albumin: I. Effects of pH and ionic strength. *International Journal of Biological Macromolecules*.
- Yamashiro, H., H. Wang, Y. Yamashita, K. Kumamoto, and T.Terada. 2006. Enhanced freezability of goat spermatozoa collected into tubes containing extender supplemented with bovine serum albumin (BSA). *Journal of Reproduction and Development* (52):407--414.
- Yatim, W. 1994. Embriologi untuk Mahasiswa Biologi dan Kedokteran. Tarsito. Bandung.
- _____. 1986. Genetika. Penerbit Tarsito. Bandung.
- Yendraliza. 2008. Inseminasi Buatan Pada Ternak. SUSKA Press. Pekanbaru.
- Yulianti, E. R. 2006. Pengaruh Beberapa Pengencer Dengan Waktu Equilibrasi Yang Berbeda Terhadap Kualitas Semen Kambing Boer Sebelum Pembekuan. Skripsi. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya. Malang.

Yulnawati. 2008. Maltosa mempertahankan viabilitas spermatozoa Epididimis kerbau belang yang disimpan dalam bentuk cair. *Journal Veteriner* 11(1) : 126--130.