

**PENGARUH PENAMBAHAN VITAMIN C DAN E DALAM PENGECER
TRIS KUNING TELUR TERHADAP KUALITAS SEMEN BEKU
SAPI BRAHMAN**

(Skripsi)

Oleh

**Hanip Rangga Saputra
1914141036**



**JURUSAN PETERNAKAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

**PENGARUH PENAMBAHAN VITAMIN C DAN E DALAM PENGENCER
TRIS KUNING TELUR TERHADAP KUALITAS SEMEN BEKU
SAPI BRAHMAN**

Oleh

**Hanip Rangga Saputra
(Skripsi)**

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

pada

**Jurusan Peternakan
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**JURUSAN PETERNAKAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

ABSTRACT

EFFECT OF VITAMIN C AND E ADDITION IN EGG YOLK TRIS DILUENT ON FROZEN SEMEN QUALITY OF BRAHMAN CATTLE

By

Hanip Rangga Saputra

This study aims to determine the effect of the addition of vitamin C, vitamin E and their combination on the quality of frozen semen (motility, viability and abnormality) in egg yolk tris diluent in Brahman cattle semen. This research was conducted in January 2023 at BIBD Poncowati, Lampung Province. This study was conducted using Completely Randomized Design (RAL) with 4 treatments and 6 replicates. The treatments were P0; control, P1; addition of vitamin C 0.5 g/100 ml diluent, P2; Vitamin E as much as 0.41 g/100 ml diluent, P3; Combination of Vitamin C as much as 0.5 g/100 ml and Vitamin E as much as 0.41 g/100 ml diluent. The data obtained were analysis of variance at the 5% level and tested further by BNT. The results showed that the addition of vitamin C and vitamin E in egg yolk tris diluent had a real effect on motility, very real on viability but no effect on abnormality. P1 treatment had the highest quality ($P < 0.05$) compared to other treatments, with motility values of $46.16 \pm 1.47\%$, viability of $83.41 \pm 3.06\%$ and abnormality of $8.33 \pm 1.46\%$. The results can be concluded that the addition of vitamin C as much as 0.5 g/100 ml of egg yolk tris diluent showed the highest value in maintaining motility and viability of Brahman cattle semen.

Keywords: Egg yolk tris, Vitamin C, Vitamin E, Spermatozoa, Brahman Cattle

ABSTRAK

PENGARUH PENAMBAHAN VITAMIN C DAN E DALAM PENGECER TRIS KUNING TELUR TERHADAP KUALITAS SEMEN BEKU SAPI BRAHMAN

Oleh

Hanip Rangga Saputra

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan vitamin C, vitamin E dan kombinasinya terhadap kualitas semen beku (motilitas, viabilitas dan abnormalitas) dalam pengencer tris kuning telur pada semen sapi Brahman. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2023 di BIBD Poncowati, Provinsi Lampung. Penelitian ini dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 6 ulangan. Perlakuannya adalah P0; kontrol, P1; penambahan vitamin C 0,5 g/100 ml pengencer, P2; Vitamin E sebanyak 0,41 g/100 ml pengencer, P3; Kombinasi Vitamin C sebanyak 0,5 g/100 ml dan Vitamin E sebanyak 0,41 g/100 ml pengencer. Data yang diperoleh dianalisis ragam dengan taraf 5% dan diuji lanjut BNT. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan vitamin C dan vitamin E pada pengencer tris kuning telur berpengaruh nyata terhadap motilitas, sangat nyata terhadap viabilitas namun tidak berpengaruh terhadap abnormalitas. Pada perlakuan P1 mempunyai kualitas tertinggi ($P < 0,05$) dibandingkan dengan perlakuan lainnya, yaitu dengan nilai motilitas $46,16 \pm 1,47\%$, viabilitas $83,41 \pm 3,06\%$ dan abnormalitas $8,33 \pm 1,46\%$. Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa penambahan vitamin C sebanyak 0,5 g/100 ml pengencer tris kuning telur menunjukkan nilai tertinggi dalam mempertahankan motilitas dan viabilitas semen sapi Brahman.

Kata kunci : Tris kuning telur, Vitamin C, Vitamin E, Spermatozoa, Sapi Brahman

Judul Skripsi

**: PENGARUH PENAMBAHAN VITAMIN C
DAN E DALAM PENGECER TRIS
KUNING TELUR TERHADAP KUALITAS
SEMEN BEKU SAPI BRAHMAN**

Nama

: Hanip Rangga Saputra

NPM

: 1914141036

Program Studi

: Peternakan

Fakultas

: Pertanian

MENYETUJUI,

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing Utama

Pembimbing Anggota


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


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

MENGETAHUI,

2. Ketua Jurusan Peternakan

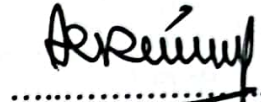

8/6'23

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

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

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



Sekretaris : drh. Madi Hartono, M.P.



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



2. Dekan Fakultas Pertanian



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

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 31 Mei 2023

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa :

1. Karya tulis berupa skripsi ini adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik (Sarjana) baik di Universitas Lampung maupun di perguruan tinggi lain;
2. Karya tulis ini murni gagasan, rumusan, dan penelitian saya sendiri tanpa bantuan pihak lain, kecuali arahan pembimbing;
3. Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis dari publikasi orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dan disebutkan nama pengarang serta dicantumkan dalam Pustaka;
4. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh karena karya tulis ini, serta sanksi lainnya yang sesuai dengan norma yang berlaku di Perguruan Tinggi.

Bandar Lampung, 07 Juni 2023

Yang Membuat Pernyataan



Hanip Rangga Saputra
NPM 1914141036

RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama lengkap Hanip Rangga Saputra lahir di Harapan Rejo pada 02 November 2000. Penulis merupakan anak kedua dari 2 bersaudara dari pasangan Bapak Amir Mahmud Alm. dengan Ibu Wabinik. Pendidikan yang telah ditempuh oleh penulis, Sekolah Dasar (SD) Negeri 1 Harapan Rejo pada 2007—2013, Sekolah Menengah Pertama (SMP) Negeri 1 Seputih Agung pada 2013—2016, Sekolah Menengah Atas (SMA) Negeri 1 Seputih Agung pada 2016—2019, dan menempuh perkuliahan di Progam Studi Peternakan, Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada 2019 melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah mengikuti salah satu organisasi mahasiswa yaitu menjadi anggota Himpunan Mahasiswa Peternakan, Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Pada 2021 penulis di amanahkan menjadi sekretaris bidang penelitian dan pengembangan Himpunan Mahasiswa Peternakan. Kemudian pada 2022 penulis diamanahkan kembali menjadi sekretaris umum Himpunan Mahasiswa Peternakan. Penulis pernah menjadi asisten dosen pada matakuliah Kimia Dasar, Manajemen Industri Ternak Perah, Abatoir dan Teknik Pematangan Ternak, dan Teknologi Reproduksi Ternak. Pada Januari—Februari 2022 penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Kampung Terbanggi Ilir, Kecamatan Bandar Mataram, Lampung Tengah. Penulis juga mengikuti program *teachingfarm closed house* jurusan peternakan, magang di Balai Inseminasi Buatan Daerah (BIBD) Poncowati, Lampung dan melaksanakan Praktik Umum di PT. Sumber Protein Unggul, Desa Rama Oetama, Kecamatan Seputih Raman, Kabupaten Lampung Tengah pada Juli—Agustus 2022.

MOTTO

“Motivasi terbaik berasal dari diri sendiri”

(Penulis)

“Kalau kau lapar, makanlah”

(Monkey D. Luffy)

“Dan terhadap nikmat tuhanmu, hendaklah engkau nyatakan (dengan bersyukur) ”

(QS. 93:11)

SANWACANA

Alhamdulillahirabbil'alamin, segala puji syukur atas kehadiran Allah *Subhanahu wa Ta'ala* karena berkat, rahmat, nikmat, hidayah, dan inayah-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Pengaruh Penambahan Vitamin C dan E dalam Pengencer Tris Kuning Telur terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Brahman” yang merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Jurusan Peternakan di Universitas Lampung.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.—selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung—atas izin yang diberikan;
2. Bapak Dr. Ir. Arif Qisthon, M.Si.—selaku Ketua Jurusan Peternakan Universitas Lampung dan pembimbing akademik—atas bimbingan dan arahan yang telah diberikan;
3. Ibu Sri Suharyati, S.Pt., M.P.—selaku pembimbing utama dan Ketua Program Studi Peternakan—atas bimbingan, saran, nasihat, dan ilmu yang diberikan selama penyusunan skripsi;
4. Bapak drh. Madi Hartono, M.P.—selaku pembimbing anggota—atas bimbingan, saran, nasihat, dan ilmu yang diberikan selama penyusunan skripsi;
5. Bapak Siswanto, S.Pt., M.Si.—selaku pembahas—atas arahan, bimbingan dan nasihat yang telah diberikan selama masa studi;
6. Bapak Amir Mahmud Alm. dan Ibu Wabinik atas segala doa, semangat, pengorbanan, dan kasih sayang yang tulus sehingga penulis bisa sampai di titik ini. Serta kakak Farida Diyah Feby Rukmana, yang selalu memberikan dukungan serta semangat selama ini kepada penulis;

7. Pihak Balai Inseminasi Buatan Daerah (BIBD) Poncowati, Lampung Tengah, atas kesempatan, arahan, dan izin tempat untuk melaksanakan penelitian;
8. Seluruh dosen dan staf Jurusan Peternakan atas segala ilmu, masukan, pemikiran dan urusan administrasi selama proses pembelajaran yang dapat menambah wawasan bagi penulis;
9. Teman-teman seperjuangan kelompok penelitian semen Agus Nurwahid, Tegar Wijaya Putra, Mahfud Rivai, Eri Febriyansar dan Fatma Nilam Sari atas waktu, tenaga, pikiran, semangat, motivasi dan kerja sama tim dalam penelitian sehingga penulis bisa pada tahap ini;
10. Keluarga besar “Angkatan 2019” atas kenangan indah selama masa studi serta motivasi yang diberikan kepada penulis;
11. Keluarga besar “Himpunan Mahasiswa Peternakan Universitas Lampung” atas suasana kekeluargaan dan kenangan yang indah selama ini;
12. Seluruh kakak-kakak (Angkatan 2018) serta adik-adik (Angkatan 2020, dan 2021) Jurusan Peternakan atas persahabatan dan motivasinya;
13. Serta semua pihak yang telah membantu selama ini yang tidak dapat disebutkan satu-persatu oleh penulis.

Penulis berdoa semoga semua bantuan dan jasa yang telah diberikan kepada penulis mendapat pahala dari Allah SWT, dan semoga skripsi ini bermanfaat bagi semua pihak yang memerlukannya.

Bandar Lampung, 14 Februari 2023

Hanip Rangga Saputra

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR.....	vi
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
1.3 Manfaat Penelitian	3
1.4 Kerangka Pemikiran.....	3
1.5 Hipotesis.....	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Sapi Brahman	7
2.2 Inseminasi Buatan	8
2.3 Pengencer Semen	9
2.4 Tris Kuning Telur.....	11
2.5 Vitamin C dan Vitamin E.....	12
III. METODE PENELITIAN	14
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	14
3.2 Alat dan Bahan.....	14
3.2.1 Alat.....	14
3.2.2 Bahan	14
3.3 Metode Penelitian.....	15
3.4 Pelaksanaan Penelitian	15
3.4.1 Pembuatan pengencer tris kuning telur	16
3.4.2 Penampungan semen.....	17
3.4.3 Evaluasi semen segar	18

3.4.4 Pengenceran semen	19
3.4.5 <i>Filing</i> dan <i>sealing</i>	19
3.4.6 <i>Ekuilibrasi</i>	20
3.4.7 <i>Test before freezing</i>	20
3.4.8 Proses <i>prefreezing</i> dan <i>freezing</i>	20
3.4.9 Pemeriksaan <i>Post thawing motility</i>	21
3.4.10 Pemeriksaan viabilitas spermatozoa setelah pembekuan.....	21
3.4.11 Pemeriksaan abnormalitas spermatozoa	22
3.5 Peubah yang Diamati	23
3.6 Analisis Data	23
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	24
4.1 Karakteristik Semen Segar Sapi Brahman	24
4.2 Pengaruh Perlakuan terhadap Kualitas Spermatozoa sebelum Pembekuan	27
4.3 Pengaruh Perlakuan terhadap Motilitas Spermatozoa setelah Pembekuan	29
4.4 Pengaruh Perlakuan terhadap Persentase Viabilitas Spermatozoa setelah Pembekuan	31
4.5 Pengaruh Perlakuan terhadap Persentase Abnormalitas Spermatozoa setelah Pembekuan	32
V. PENUTUP	35
5.1 Kesimpulan	35
5.2 Saran.....	35
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi bahan pengencer tris kuning telur.....	16
2. Karakteristik semen segar sapi Brahman.....	24
3. Rata-rata persentase motilitas, viabilitas, dan abnormalitas sebelum pembekuan (<i>ekuibrasi</i>)	27
4. Rata-rata persentase motilitas spermatozoa setelah pembekuan.	29
5. Rata-rata nilai viabilitas spermatozoa setelah pembekuan	31
6. Rata-rata persentase abnormalitas spermatozoa setelah pembekuan	33
7. Hasil penelitian motilitas spermatozoa	42
8. Hasil <i>analysis of variance</i> (ANOVA) motilitas spermatozoa.....	42
9. Hasil uji lanjut BNT motilitas spermatozoa.....	42
10. Hasil penelitian viabilitas spermatozoa.....	42
11. Hasil <i>analysis of variance</i> (ANOVA) viabilitas spermatozoa	43
12. Hasil uji lanjut BNT viabilitas spermatozoa	43
13. Hasil penelitian abnormalitas spermatozoa.....	43
14. Hasil <i>analysis of variance</i> (ANOVA) abnormalitas spermatozoa	44

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Sapi Brahman.....	8
2. Bagan prosedur pengujian kualitas semen	15
3. Penampungan semen.....	45
4. Pembuatan pengencer	45
5. Pemeriksaan viabilitas spermatozoa	46
6. Pemeriksaan abnormalitas spermatozoa	46

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kebutuhan protein hewani masyarakat Indonesia setiap tahunnya selalu meningkat, salah satu kebutuhan protein adalah daging. Daging terbagi atas dua jenis yaitu daging merah dan daging putih. Daging merah merupakan daging yang berasal dari ternak ruminansia, salah satunya adalah daging sapi. Sapi yang memiliki kualitas daging yang tinggi salah satunya adalah sapi Brahman. Sapi Brahman atau *Bos Indicus* adalah sapi yang berasal dari negara India. Sapi Brahman merupakan salah satu jenis sapi keturunan sapi Zebu.

Lampung menjadi salah satu daerah dengan pemeliharaan ternak sapi terbesar di Indonesia atau biasa disebut dengan lumbung ternak. Masyarakat Lampung mayoritas memelihara ternak sapi dirumahnya untuk kegiatan sampingan atau juga untuk tabungan. Masyarakat memelihara sapi karena memiliki harga jual yang tinggi dan mudah dalam perawatan. Usaha peternak rakyat di Indonesia banyak yang memelihara sapi betina atau indukan dibandingkan dengan sapi pejantan. Pemeliharaan sapi indukan yang dilakukan bertujuan untuk menambah jumlah ternak yang dimiliki dengan cara perkawinan alami atau buatan. Kegiatan pemeliharaan sapi ini lah yang dapat menambah pendapatan masyarakat di Indonesia.

Kebutuhan konsumsi daging menurut Badan Pusat Statistik (BPS) mencapai 696.960 ton, sedangkan jumlah produksi daging sapi di Indonesia hanya mencapai 437.783 ton pada tahun 2022. Pemerintah melakukan impor daging sapi atau kerbau mencapai 266.065 ton untuk memenuhi kebutuhan konsumsi daging di

Indonesia. Upaya lain untuk pemenuhan kebutuhan sapi yang dapat dilakukan yaitu dengan meningkatkan mutu genetik ternak melalui perkawinan dengan pejantan yang memiliki genetik unggul. Salah satu cara untuk peningkatan mutu yaitu dengan perkawinan buatan atau inseminasi buatan menggunakan semen pejantan unggul.

Keberhasilan program Inseminasi Buatan (IB) salah satunya ditentukan oleh kualitas semen. Semen yang berkualitas akan dibekukan untuk menambah daya simpan. Pembekuan semen juga bertujuan agar spermatozoa tidak banyak yang mati sampai dilakukan *thawing* (pengenceran kembali). Sebelum dibekukan tentunya semen diencerkan dengan bahan pengencer yang mampu mempertahankan daya tahan hidup spermatozoa. Namun selama proses pembekuan dan *post thawing* akan banyak spermatozoa yang mengalami kematian akibat adanya radikal bebas yang dapat merusak membran spermatozoa, oleh karena itu perlu ditambahkan bahan pengencer yang mengandung bahan antioksidan. Penambahan antioksidan pada bahan pengencer berfungsi untuk meminimalisir atau menekan kerusakan membran spermatozoa akibat terjadinya radikal bebas.

Antioksidan yang mampu untuk meningkatkan kualitas semen adalah vitamin C (Yahaq *et al.*, 2019) dan Vitamin E (Breininger *et al.*, 2005). Vitamin C (asam ascorbat) merupakan salah satu vitamin yang bersifat sebagai antioksidan yang larut dalam air. Vitamin C mampu menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi rantai sehingga dapat menghindari kerusakan peroksidatif yang berpengaruh terhadap viabilitas dan fertilitas spermatozoa. Vitamin E atau α tokoferol mempunyai kemampuan memutuskan berbagai rantai reaksi radikal bebas sebagai akibat kemampuannya memindahkan hidrogen fenolat pada radikal bebas dari asam lemak tidak jenuh ganda yang telah mengalami peroksidasi (Mayes, 1995). Menurut Beconi *et al.* (1993), secara *in vitro* vitamin E mampu melindungi membran sel melawan peroksidasi lipid dengan cara menangkap radikal bebas.

Sampai saat ini belum banyak dilakukan penelitian yang dilakukan tentang penambahan vitamin C, vitamin E, dan kombinasinya yang ditambahkan pada pengencer tris kuning telur pada semen sapi Brahman. Oleh karena itu perlu dilakukannya penelitian untuk mengetahui penambahan vitamin C, vitamin E, dan kombinasinya dalam pengencer tris kuning telur pada semen sapi Brahman.

1.2 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui pengaruh penambahan vitamin C, vitamin E, dan kombinasinya dalam pengencer tris kuning telur terhadap kualitas semen beku sapi Brahman;
2. Untuk mengetahui perlakuan penambahan vitamin C, vitamin E, dan kombinasinya dalam pengencer tris kuning telur yang terbaik terhadap kualitas semen beku sapi Brahman.

1.3 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi tentang pengaruh penambahan vitamin C dan E dalam pengencer tris kuning telur terhadap kualitas semen beku sapi Brahman sehingga dapat diimplementasikan oleh pihak-pihak terkait seperti Balai Inseminasi Buatan.

1.4 Kerangka Pemikiran

Pada saat ini perkawinan secara inseminasi buatan menjadi salah satu cara untuk meningkatkan kualitas genetik dari pejantan yang berkualitas. Para peternak memilih perkawinan secara inseminasi buatan daripada perkawinan secara alami. Inseminasi Buatan (IB) merupakan salah satu alternatif yang dapat dilakukan untuk meningkatkan reproduktivitas dan populasi ternak. Dari semen seekor pejantan yang berkualitas dapat digunakan untuk mengawini beberapa betina dan dengan cara ini dapat menurunkan penularan penyakit yang melalui perkawinan.

Tingkat keberhasilan inseminasi buatan sangat dipengaruhi oleh kualitas sperma. Sperma yang disimpan semakin lama maka kualitasnya akan semakin menurun, oleh karena itu untuk mempertahankan kualitas sperma selama penyimpanan dan pembekuan perlu penambahan bahan pengencer. Kematian sperma karena *cold shock* pada saat pendinginan dan pembekuan dapat diperkecil dengan menambahkan bahan pengencer sebagai pelindung (Hartono, 2008).

Penambahan bahan pengencer bertujuan untuk mempertahankan hidup spermatozoa selama proses pembekuan ataupun penyimpanan. Menurut Aslam *et al.* (2014), pengencer spermatozoa memiliki syarat penting yaitu sebagai penyedia makanan untuk menjadi sumber energi, dapat mencegah *cold shock* serta mencegah terbentuknya kristal es selama penyimpanan, menstabilkan pH dan tekanan osmotik agar tetap sama dengan spermatozoa. Maka dari itu, untuk mempertahankan kualitas semen yang akan dibekukan agar tetap terjaga selama dalam penyimpanan diperlukan pengencer yang mengandung nutrisi, anti *cold shock*, *krioprotektan* dan antioksidan yang dapat menjaga kualitas semen dalam proses *ekuilibrasi* hingga pembekuan (Wiratri *et al.*, 2014).

Bahan pengencer biasanya memiliki harga yang lumayan mahal. Oleh karena itu lebih baik memanfaatkan bahan alami yang mudah dan murah didapat. Salah satu bahan pengencer yang biasa digunakan adalah tris kuning telur. Selain harganya murah, kuning telur banyak mengandung nutrisi untuk kebutuhan hidup sperma serta terdapat *phospatidhyl choline* yang dipercaya mampu melindungi membran sperma dengan memulihkan kehilangan fosfolipid, adanya lesitin dan lipoprotein yang bekerja mempertahankan dan melindungi integritas selubung lipoprotein dan sel spermatozoa (Toelihere, 1993).

Spermatozoa atau sel sperma adalah sel yang berfungsi mengantarkan *deoxyribonucleic acid* (DNA) dari jantan ke sel telur. Membran spermatozoa dapat rusak karena adanya reaksi peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid adalah asam lemak tak jenuh yang bereaksi dengan kelompok *Reactive Oxygen Species* (ROS) berupa radikal hidroksil yang akan menyebabkan reaksi berantai. Peroksidasi

lipid yang terus menerus akan menyebabkan terakumulasinya ROS dalam membran mitokondria, selanjutnya akan meningkatkan kerusakan sel (Umami 2009). Kerusakan membran spermatozoa akibat reaktivitas ROS dapat dicegah dengan adanya senyawa antioksidan yang dapat melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki oleh radikal bebas, sehingga reaksi berantai berupa peroksidasi lipid dapat dihambat (Winarsi, 2007). Salah satu target akibat radikal bebas adalah senyawa lipid, protein, asam lemak tak jenuh, lipoprotein, karbohidrat, serta DNA dan RNA. Beberapa molekul tersebut yang paling rentan terhadap serangan radikal bebas adalah asam lemak tak jenuh yang berada di dalam sel (Astuti, 2012).

Antioksidan yang mampu untuk mempertahankan kualitas semen adalah vitamin C dan vitamin E. Vitamin C memiliki kemampuan untuk menguatkan kestabilan jaringan membran plasma terhadap peroksidasi yang terjadi pada saat pengolahan semen beku, karena ada kontak langsung dengan O₂ (oksigen) yang dapat menyebabkan kematian pada spermatozoa (Savitri *et al.*, 2014). Menurut Aslam *et al.* (2014), vitamin C dapat mencegah terjadinya kerusakan peroksidatif akibat radikal bebas yang dapat menjadi reaksi rantai, kerusakan tersebut dapat mempengaruhi fertilitas dan viabilitas spermatozoa. Penambahan vitamin C dengan dosis 0,5 g/100 ml pengencer tris kuning telur merupakan dosis terbaik yang dapat mempertahankan persentase motilitas, viabilitas, abnormalitas dan membran plasma utuh (MPU) spermatozoa sapi Brahman setelah thawing (Destriani, 2021).

Vitamin E mempunyai kemampuan memutuskan berbagai rantai reaksi radikal bebas sebagai akibat kemampuannya memindahkan hidrogen fenolat pada radikal bebas dari asam lemak tidak jenuh ganda yang telah mengalami peroksidasi (Mayes, 1995). Alawiyah dan Hartono (2006) menyatakan bahwa penambahan vitamin E dengan dosis 0,1—0,4 g/100 ml bahan pengencer cenderung meningkatkan jumlah sperma yang hidup. Menurut Beconi *et al.* (1993), secara *in vitro* vitamin E mampu melindungi membran sel melawan peroksidasi lipid dengan cara menangkap radikal bebas. Lebih lanjut Mayes (1995) menjelaskan

bahwa vitamin E mempunyai kemampuan memutus rantai reaksi peroksidasi atau menangkap rantai radikal bebas dengan cara bereaksi secara langsung dengan berbagai peroksi organik sehingga mencegah terjadinya reaksi berantai dan dapat menekan terjadinya kerusakan peroksidatif yang berpengaruh terhadap kualitas sperma.

1.5 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah :

1. penambahan vitamin C, vitamin E, dan kombinasinya pada bahan pengencer tris kuning telur berpengaruh terhadap kualitas semen beku sapi Brahman;
2. terdapat perlakuan penambahan vitamin C, vitamin E, dan kombinasinya pada bahan pengencer tris kuning telur yang paling baik terhadap kualitas semen beku sapi Brahman.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sapi Brahman

Ada beberapa jenis sapi yang memang khusus dipelihara untuk digemukkan karena karakteristik yang dimilikinya, seperti tingkat pertumbuhan cepat dan kualitas daging yang cukup baik, sapi-sapi inilah yang umumnya baik untuk dijadikan sapi bakalan, yang dipelihara secara intensif selama beberapa bulan, sehingga diperoleh pertambahan bobot badan yang ideal untuk dipotong (Abidin, 2010).

Sapi Brahman merupakan sapi yang berasal dari India yang merupakan keturunan dari sapi Zebu (*Bos indicus*). Ciri khas sapi Brahman adalah berpunuk besar dan berkulit longgar, gelambir dibawah leher sampai perut lebar dengan banyak lipatan-lipatan. Telinga panjang menggantung dan berujung runcing. Sapi ini adalah tipe sapi potong terbaik untuk dikembangkan. Sapi Brahman memiliki keunggulan yaitu mudah beradaptasi terhadap suhu panas, makanan yang sederhana, dan tahan gigitan caplak (Sudarmono dan Sugeng, 2008).

Sapi Brahman berkembang pesat di Amerika Serikat yang beriklim tropis, kemudian sapi Brahman dikembangbiakkan di Australia dan New Zealand dengan tujuan untuk meningkatkan mutu genetiknya. Sapi Brahman kemudian di ekspor ke beberapa negara termasuk di Indonesia (Susilawati, 2003). Gambar sapi Brahman dapat dilihat pada Gambar 1.

Menurut Blakely dan Bade (1992), sapi Brahman memiliki klasifikasi taksonomi sebagai berikut:

Phylum : Chordata;
Sub-phylum : Vertebrata;
Class : Mamalia;
Sub-Class : Eutheria;
Ordo : Artiodactyla;
Sub-ordo : Ruminantia;
Infra-Ordo : Pecora;
Family : Bovidae;
Genus : Bos;
Group : Taurinae;
Species : *Bos indicus*.



Gambar 1. Sapi Brahman
Sumber: dokumen pribadi

2.2 Inseminasi Buatan

Inseminasi buatan adalah suatu teknologi dan proses memasukkan sperma ke dalam saluran reproduksi betina dengan tujuan agar betina bunting tanpa perlu terjadi perkawinan alami. Konsep dasar dari teknologi ini adalah bahwa seekor pejantan dapat menghasilkan sperma hingga milyaran sel kelamin jantan

(Spermatozoa) per ejakulasi, sedangkan untuk membuahi sel telur pada betina hanya dibutuhkan satu sel spermatozoa (Hafez, 1993). Proses memasukan sperma jantan ke dalam saluran reproduksi betina bertujuan agar dapat terjadinya kebuntingan terhadap betina merupakan salah satu cara inseminasi buatan yang dilakukan tanpa adanya perlakuan kawin alami. Tujuan inseminasi buatan (IB) yaitu salah satunya sebagai alat yang mampu dan ampuh yang dibuat oleh manusia agar dapat meningkatkan populasi ternak secara kualitatif dan kuantitatif (Toelihere,1993).

Konsep yang dasar dalam teknologi ini yaitu seekor pejantan secara ilmiah dapat memproduksi puluhan milyar spermatozoa per-hari yang digunakan untuk membuahi sel telur pada seekor betina yang seharusnya diperlukan satu sel spermatozoa dari seekor pejantan (Hafez, 2000). Inseminasi buatan memiliki dua metode yaitu metode vaginaskop dan metode rectorvaginal (Susilawati, 2003). Faktor yang sering mempengaruhi keberhasilan kebuntingan yaitu posisi deposisi semen dalam saluran reproduksi ternak betina (Selk, 2007).

Tingkat keberhasilan perkawinan dengan IB sangat dipengaruhi oleh kualitas sperma. Kualitas sperma sesudah penampungan akan mengalami penurunan apabila tidak segera digunakan. Sperma yang tidak diencerkan dan disimpan selama sehari fertilitasnya akan menurun, oleh karena itu untuk mempertahankan kualitas sperma selama penyimpanan dan pembekuan adalah dengan penambahan bahan pengencer (Hartono, 2008). Rendahnya tingkat aplikasi IB pada ternak kambing disebabkan oleh beberapa faktor, seperti: tidak tersedianya semen, kurangnya keterampilan inseminator untuk melakukan IB pada ternak kambing, dan jumlah pejantan kambing unggul tidak cukup memadai (Riyadhi *et al.*, 2017).

2.3 Pengencer Semen

Untuk menghasilkan semen beku yang berkualitas tinggi dibutuhkan bahan pengencer semen yang mampu mempertahankan kualitas spermatozoa selama proses pendinginan, pembekuan, maupun pada saat *thawing* (Aboagla dan Terada,

2004). Bahan pengencer harus mengandung sumber nutrisi, *buffer*, bahan anti *cold shock*, antibiotik dan krioprotektan yang dapat melindungi spermatozoa selama proses pembekuan dan *thawing*. Sumber nutrisi yang paling banyak digunakan adalah karbohidrat terutama fruktosa yang paling mudah dimetabolisasi oleh spermatozoa (Toelihere, 1993).

Buffer berfungsi sebagai pengatur tekanan osmotik dan juga berfungsi menetralkan asam laktat yang dihasilkan dari sisa metabolisme spermatozoa. *Buffer* yang umum digunakan adalah tris (*hydroxymethyl*) *aminomethane* yang mempunyai kemampuan sebagai penyangga yang baik dengan toksisitas yang rendah dalam konsentrasi yang tinggi (Steinbach dan Foote, 1967). Bahan anti *cold shock* yang umum ditambahkan adalah kuning telur yang dapat melindungi spermatozoa pada saat perubahan suhu dari suhu ruang (28°C) pada saat pengolahan ke suhu ekuilibriasi (5°C) (Aboagla dan Terada, 2004).

Pengenceran semen dilakukan sebelum proses pembekuan. Tujuan dari pengenceran semen yaitu untuk meningkatkan dan memperbanyak volume semen serta menunjang daya hidup spermatozoa. Syarat bahan pengencer semen yaitu memiliki kandungan nutrisi yang baik yang dijadikan sebagai sumber energi untuk kelangsungan hidup spermatozoa (Toelihere, 1993). Untuk menghasilkan semen beku yang berkualitas tinggi dibutuhkan bahan pengencer semen yang mampu mempertahankan kualitas spermatozoa selama proses pendinginan, pembekuan, maupun pada saat *thawing* (Aboagla dan Terada, 2004).

Beberapa bahan pengencer yang umum digunakan dalam pengencer semen adalah kuning telur, susu, dan air kelapa. Larutan pengencer semen yang memiliki komposisi kimia lebih lengkap akan memberikan fungsi yang baik bagi spermatozoa yang diencerkan (Ridwan, 2007). Melalui pemanfaatan teknologi dalam pengenceran dan preservasi semen akan lebih dapat mengoptimalkan kapasitas semen yang diejakulasikan oleh seekor pejantan unggul. Ketersediaan semen cair atau beku yang berkualitas baik jika dipadukan dengan upaya meningkatkan kemampuan dan keterampilan peternak dan petugas di lapangan,

khususnya dalam bidang reproduksi yang terkait langsung dengan program IB tentu akan menciptakan sinergi yang baik untuk mempercepat peningkatan populasi dan perbaikan mutu genetik ternak kambing tersebut (Riyadhi *et al.*, 2017).

2.4 Tris Kuning Telur

Bahan pengencer tris kuning telur terdiri dari tris *aminomethane* berfungsi sebagai *buffer* dan mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit. Asam sitrat monohidrat berfungsi sebagai bahan antioksidan. Kristal glukosa berfungsi sebagai sumber makanan atau energi untuk spermatozoa. *Penicillin* dan *streptomycin* sebagai antibiotik untuk melawan bakteri positif dan negatif. Kuning telur berfungsi melindungi spermatozoa terhadap *cold shock* dan sebagai sumber energi (Affandhy, 2003).

Sekitar 30% dari berat telur adalah bagian dari kuning telur. Kuning telur memiliki komposisi gizi yang lebih lengkap dibanding putih telur. Komposisi kuning telur terdiri dari air, protein, lemak, karbohidrat, mineral dan vitamin (Sarwono, 1995). Protein telur termasuk sempurna karena mengandung semua jenis asam amino esensial dalam jumlah yang cukup seimbang (Haryanto, 1996). Menurut Toelihere (1993), kuning telur mengandung lipoprotein dan *lechitin* yang mempertahankan dan melindungi integritas dan selubung lipoprotein dari sel spermatozoa dan mencegah *cold shock*. Menurut Hafez (1987), daya guna telur ayam sebagai pengencer semen sangat berharga dan pada dewasa ini penggunaannya meluas ke seluruh dunia. Kuning telur juga terdapat zat yang dapat merusak fertilitas spermatozoa sehingga bisa menjadi racun bagi spermatozoa dan juga zat-zat yang dapat mencegah kerusakan spermatozoa selama proses pendinginan (Situmorang, 1991).

2.5 Vitamin C dan Vitamin E

Dalam proses IB diperlukan pengolahan semen agar dapat disimpan dan digunakan dalam waktu yang cukup lama. Selama proses pengenceran dan penyimpanan, masalah yang sering terjadi adalah kerusakan pada membran plasma semen akibat terbentuknya peroksida lipid (Putra *et al.*, 2019).

Salah satu antioksidan yang mampu untuk meningkatkan kualitas semen adalah vitamin C. Vitamin C memiliki kemampuan untuk menguatkan kestabilan jaringan membran plasma terhadap peroksidasi yang terjadi pada saat pengolahan semen beku, karena ada kontak langsung dengan O₂ (oksigen) yang dapat menyebabkan kematian pada spermatozoa (Savitri *et al.*, 2014).

Penambahan vitamin C dengan 0,5 g/100 ml dalam pengencer tris kuning telur merupakan dosis yang optimal dan mampu mempertahankan persentase motilitas, viabilitas, abnormalitas dan membran plasma utuh (MPU) spermatozoa sapi Brahman setelah *thawing* (Destriani, 2021). Penambahan vitamin C mampu meminimalkan kerusakan membran plasma sel sperma yang terjadi akibat reaksi peroksidasi (Yahaq *et al.*, 2019).

Penambahan vitamin C yang terlalu banyak dapat merubah kondisi pH dalam pengencer semen, sehingga semen menjadi asam. Kondisi asam tersebut dapat meningkatkan persentase kematian sel sperma. Kematian sel sperma tersebut dikarenakan pada kondisi asam dapat meningkatkan tekanan osmotik pada cairan semen. Akibatnya dapat terjadi ketidakseimbangan tekanan osmotik antara di dalam dan di luar sel sperma (Yahaq *et al.*, 2019).

Selain vitamin C, antioksidan lain yang dapat digunakan adalah vitamin E. Vitamin E merupakan salah satu antioksidan yang digunakan untuk menghambat reaksi peroksidasi lipid, yakni suatu zat yang dapat mengikat senyawa radikal bebas (Putra *et al.*, 2019). Alawiyah dan Hartono (2006) mengungkapkan bahwa penambahan vitamin E dengan dosis 0,1—0,4 g/100 ml bahan pengencer

cenderung meningkatkan jumlah sperma yang hidup. Semakin besar dosis vitamin E dalam pengencer sitrat kuning telur (SKT) dengan dosis terbesar 0,5 g/100 ml maka kualitas semen cair yang disimpan selama 18 jam semakin baik dengan nilai motilitas sebesar $59,37 \pm 8,00$ %; dan viabilitas $89,46 \pm 1,12$ %. Pada pembekuan dosis penambahan vitamin E dalam pengencer SKT yang optimal adalah 0,41g/100 ml dengan nilai motilitas sebesar 53,4% dan 0,412 g/100 ml dengan nilai viabilitas sebesar 86,57%. Penambahan vitamin E akan mencegah peroksidasi lipid dengan cara memindahkan atom hidrogen kepada radikal peroksil. Semakin banyak vitamin E yang ditambahkan maka semakin banyak atom hidrogen yang dilepaskan sehingga peristiwa peroksidasi lipid tidak terjadi dan viabilitas spermatozoa tetap terjaga (Hartono, 2008).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada Januari 2023 bertempat di Laboratorium Unit Pelayanan Teknis Daerah Balai Inseminasi Buatan Daerah (UPTDBIBD) Poncowati, Lampung Tengah.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi, vagina buatan, pompa tangan, batang pengaduk, thermometer, tabung penampung semen, kertas label, alat tulis, kandang kawin, mikroskop, layar monitor, *object glass*, *cover glass*, *stik glass*, *beaker glass*, pipet, timbangan digital analitik, gelas labu Erlenmeyer, panci, pemanas elektrik, mesin *filling* dan *sealing*, *box freezing*, dudukan rak, rak straw, depo, corong, gayung, gunting, tisu, pinset, *container*, *canister* dan goblet.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan yaitu kuning telur, vitamin C, vitamin E, semen Sapi Brahman, vaselin, ternak pemancing, air panas, sabun, NaCl, N₂ cair, alkohol 70%, tris aminomethan, asam sitrat, fruktosa, aquabides 100 ml dan gliserol.

3.3 Metode Penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan penambahan jenis antioksidan yaitu vitamin C, vitamin E, dan kombinasinya dalam pengencer tris kuning telur dan setiap perlakuan diulang 6 kali. Perlakuan yang diberikan yaitu :

P0 : Tanpa penambahan vitamin C dan vitamin E

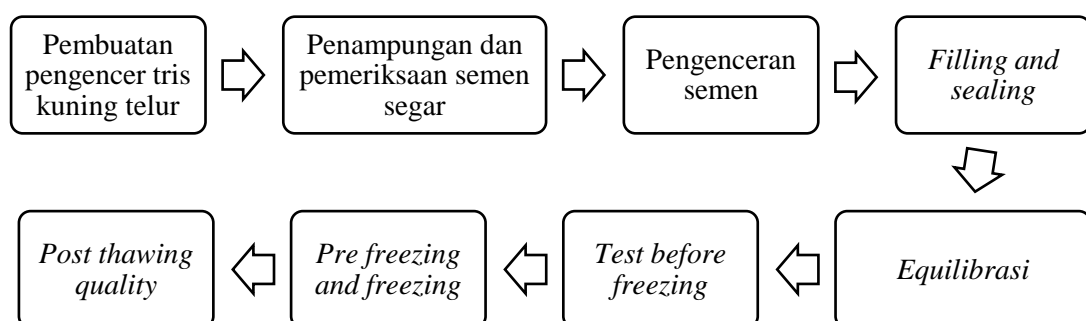
P1 : Vitamin C sebanyak 0,5 g/100 ml pengencer

P2 : Vitamin E sebanyak 0,41 g/100 ml pengencer

P3 : Kombinasi vitamin C sebanyak 0,5 g/100 ml dan vitamin E sebanyak 0,41 g/100 ml

3.4 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium UPTD-BIBD Lampung yang meliputi proses pembuatan pengencer tris kuning telur, penampungan semen, pemeriksaan kualitas semen segar, dan pemeriksaan kualitas semen beku berupa motilitas spermatozoa, persentase hidup spermatozoa, dan abnormalitas spermatozoa. Proses pengujian kualitas semen yang dilakukan di UPTD BIB Poncowati Lampung dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar. 2. Bagan prosedur pengujian kualitas semen

3.4.1 Pembuatan pengencer tris kuning telur

Tahapan dalam pembuatan pengencer yaitu;

1. mencuci telur dengan air mengalir, dikeringkan dan disterilisasi menggunakan alkohol 70%, selanjutnya memisahkan kuning telur dengan albumin menggunakan kertas saring;
2. membuat larutan antibiotik
 - a. menyiapkan *penicilin* 3 g/ 3 jt IU;
 - b. menyiapkan *streptomycin* 1 g;
 - c. melarutkan kedua bahan dalam 10 ml aquades.

Komposisi bahan pengencer tris kuning telur dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi bahan pengencer tris kuning telur

Bahan	Perlakuan			
	P0	P1	P2	P3
Pembuatan antibiotic				
- <i>Penicilin</i> 3 jt IU (g)	3	3	3	3
- <i>Streptomycin</i> (g)	1	1	1	1
- Aquades (ml)	10	10	10	10
Pembuatan bahan pengencer				
- Tris aminomethan (g)	3,03	3,03	3,03	3,03
- Asam sitrat (g)	1,78	1,78	1,78	1,78
- Fruktosa (g)	1,25	1,25	1,25	1,25
- Vitamin C (g)*	-	0,5	-	0,5
- Vitamin E (g)*	-	-	0,41	0,41
- Aquades (ml)	60	60	60	60
- Kuning telur (ml)	25	25	25	25
- Gliserol (ml)	6	6	6	6

Sumber : BIB Poncowati (2021)

Keterangan : P0 : pengencer tris kuning telur tanpa penambahan vitamin
 P1 : pengencer tris kuning telur + vitamin C
 P2 : pengencer tris kuning telur + vitamin E
 P3 : pengencer tris kuning telur + vitamin C dan vitamin E
 * : penambahan perlakuan

3.4.2 Penampungan semen

Penampungan semen dilakukan dengan beberapa tahap yaitu:

1. memastikan area kandang penampungan dalam keadaan bersih, dan alas penampungan tidak licin agar tidak menyebabkan cedera pada ternak maupun petugas;
2. mewajibkan petugas mengenakan APD berupa *wearpack*, helm, dan *safety boot*;
3. menyiapkan pejantan yang akan ditampung beserta *teaser* (jantan) atau boneka pemancing (*dummy cow*) sesuai dengan jadwal penampungan;
4. memasukkan teaser atau pemancing ke dalam kandang jepit/ kandang kawin, mengikat tali pada tiang agar *teaser* tidak terlepas;
5. menarik tali kekang pejantan agar berada di belakang ternak pemancing dan membiarkan pejantan menaiki pemancing;
6. menyemprotkan cairan NaCl ke preputium pejantan agar preputium dan penis dalam keadaan bersih;
7. melakukan 3 kali *false mount*. *False mount* adalah sapi pejantan dibiarkan menaiki pemancing tapi tidak dilakukan pengambilan semen. Tujuannya untuk menaikkan libido;
8. menunggu pada saat libido pejantan telah memuncak yang ditandai dengan mukosa penis nampak memerah, pejantan menaiki *teaser* dan penisnya keluar, maka penampung menangkap pada bagian preputium dan mengarahkan penis ke vagina buatan. Setelah ujung penis menempel pada ujung mulut vagina buatan, pejantan tersebut akan menekan penis ke dalam vagina buatan maka terjadilah ejakulasi;
9. memastikan bahwa ejakulasi telah terjadi secara optimal, jika belum optimal maka dilakukan penampungan lagi dengan jeda selama 30 menit;
10. menyerahkan semen yang telah ditampung ke bagian laboran untuk dilakukan evaluasi/ pemeriksaan (BIB Poncowati, 2021).

3.4.3 Evaluasi semen segar

Evaluasi semen segar dilakukan segera setelah semen ditampung dari pejantan. Evaluasi semen dilakukan untuk mengetahui semen yang ditampung layak atau tidak untuk dilakukan proses selanjutnya. Evaluasi semen meliputi pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis.

Pemeriksaan makroskopis meliputi:

1. Volume;
2. Warna;
3. Kekentalan;
4. Bau;
5. pH.

Pemeriksaan mikroskopis dilakukan dengan tahapan:

1. menyalakan mikroskop, layar monitor dan *slide warmer*;
 2. menyiapkan NaCl fisiologis 0,9% dalam *beaker glass*, *stick glass*, pipet, *object glass*, *cover glass* dan *tissue*;
 3. melakukan pemeriksaan gerakan massa sperma
 - a. meneteskan semen menggunakan *stick glass* di atas *object glass*.
 - b. melihat dibawah mikroskop dengan perbesaran 10 x 10 sambil mengatur jarak lensa dengan objek yang dilihat sehingga terlihat gerakan massa semen, dan dilakukan penilaian sebagai berikut:
 - 0 : tidak ada gerak spermatozoa maupun gerak massa sperma
 - +
 : gerakan massa sperma lemah berupa gelombang tipis dan jarang
 - ++
 : gerakan massa sperma cepat berupa gelombang tebal dan gelap
 - +++
 : gerakan massa sperma sangat cepat berupa gelombang gelombang tebal dan gelap

 Semen segar yang layak diproses lebih lanjut adalah semen dengan nilai gerakan massa minimal (+ +);
4. melakukan pemeriksaan motilitas sperma;

5. mengencerkan semen dengan NaCl Fisiologis (satu tetes semen ditambah 4 tetes NaCl sesuai kekentalan semen) kemudian ditutup dengan *cover glass*. Melihat dibawah mikroskop dengan perbesaran 20x10 dan 10x10;
6. mengamati motilitas sperma dengan cara menilai sperma yang bergerak maju. Pengamatan dilakukan pada minimal 5 bidang pandang. Semen segar yang layak diproduksi adalah yang memiliki motilitas sperma $\geq 70\%$. (BIB Poncowati, 2021).

3.4.4 Pengenceran semen

Pengenceran dilakukan untuk menambah volume semen dengan cara:

1. menyiapkan semen segar yang telah dievaluasi dan menyiapkan bahan pengencer yang telah dibuat dan disimpan di dalam inkubator dengan suhu 37°C agar pengencer tetap dalam kondisi hangat;
2. mengukur pengencer sesuai dengan jumlah yang diperlukan;
3. mencampur pengencer dengan semen segar di dalam *beaker glass* dan memberi label nama sapi (BIB Poncowati, 2021)..

3.4.5 Filing dan Sealing

Tahapan *filing* dan *sealing* yaitu:

1. memasang washer (karet) pada jarum panjang dan jarum pendek (posisi karet harus rapat/menempel dengan kepala jarum);
2. memasang selang pada jarum (posisi selang hanya sampai setengah dari pangkal jarum) kemudian pasang *filling head* dan *suction head* pada tempatnya masing-masing;
3. memastikan posisi lubang jarum menghadap ke atas dan posisi selang antara jarum dan valve (katup/penjepit selang) dilonggarkan;
4. meletakkan semen *cone* pada tempatnya;
5. memasukkan straw ke dalam *straw hopper* sesuai dengan semen yang akan diisi;
6. memasukkan larutan semen dan pengencer ke dalam semen cone;

7. memposisikan tuas yang ada di samping *straw hopper* pada posisi *open* (MPP Uno);
8. menekan tombol hijau (*on/off*) tunggu beberapa saat kemudian tekan “*Start*”
Apabila semen sudah habis terisi geser tuas pada posisi *closed* (MPP Uno)
Apabila semen sudah habis terisi, mesin akan otomatis berhenti (MPP Ouatro);
9. mematikan mesin dengan menekan tombol hijau (*on/off*) (BIB Poncowati, 2021).

3.4.6 Ekuilibrasi

Tahapan *ekuilibrasi* yaitu:

1. meletakkan straw ke dalam cool top selama 4 jam dengan suhu 1-5 °C;
2. mengecek suhu *thermometer* dalam *cool top*;
3. merapikan straw di rak (BIB Poncowati, 2021).

3.4.7 Test before freezing

Pemeriksaan semen sebelum dibekukan dapat dilakukan dengan cara:

1. menyiapkan *object glass*;
2. meneteskan semen di atas *object glass* dan menutup dengan *cover glass*;
3. mengamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 200x atau 100x, penilaian meliputi motilitas, abnormalitas dan viabilitas;
4. mengeluarkan semen yang tidak memenuhi syarat (BIB Poncowati, 2021).

3.4.8 Proses *prefreezing* dan *freezing*

Tahapan *prefreezing* dan *freezing* dapat dilakukan sebagai berikut:

1. mengisi *box prefreezing* dengan N₂ cair sampai batas yang telah ditandai;
2. meletakkan rak straw diatas dudukan dengan jarak straw dengan permukaan N₂ cair sekitar 6 cm selama 10 menit;
3. memasukkan straws kedalam goblet berisi N₂ cair yang diletakkan di *box*;

4. memindahkan goblet dengan cepat pada *canister* dan dimasukkan ke dalam kontainer sampai terendam N₂ cair dengan temperatur - 196° C (BIB Poncowati, 2021)

3.4.9 Pemeriksaan *Post thawing motility*

Pemeriksaan *post thawing motility* dilakukan dengan cara:

1. menyiapkan air hangat pada *water incubator* atau dalam termos air dengan suhu 37 C;
2. mengambil 2 dosis semen beku yang telah disimpan minimal 12 jam setelah pembekuan, lalu *thawing* dalam air hangat dengan suhu 37 °C selama 30 detik;
3. mengeringkan dengan tisu, lalu potong kedua ujung straw;
4. memasukkan larutan semen ke dalam *mikrotube* dan dihangatkan pada suhu sekitar 37 °C;
5. meneteskan diatas *object glass* kemudian tutup dengan *cover glass*;
6. melihat dibawah mikroskop dengan perbesaran 10 x 10 pada beberapa lapang pandang;
7. melakukan penilaian terhadap motilitas sperma minimal motilitas sperma 40%.
8. melakukan penilaian dengan cara membandingkan spermatozoa yang bergerak progresif dengan spermatozoa yang bergerak tidak progresif dan dinyatakan dengan persentase antara 0-100% (BIB Poncowati, 2021).

3.4.10 Pemeriksaan viabilitas setelah pembekuan

Pemeriksaan viabilitas dilakukan dengan cara:

1. meneteskan satu tetes eosin 2% pada ujung gelas objek;
2. meneteskan semen beku yang telah dicampur dengan bahan pengencer tris kuning telur secara berturut-turut (P0,P1,P2 dan P3);

3. menempelkan ujung gelas objek yang lain atau ujung gelas penutup pada kedua cairan sehingga keduanya bercampur, kemudian didorong ke ujung gelas objek;
4. mengeringkan preparat ulas dengan cara menggerakkan di atas nyala lilin atau pemanas Bunsen;
5. memeriksa spermatozoa yang hidup dan mati dengan menggunakan mikroskop pada perbesaran sedang (10x40) spermatozoa yang hidup tidak berwarna, sedangkan spermatozoa yang mati akan berwarna merah atau merah muda. Jumlah spermatozoa yang dihitung minimal 210 sel;
6. menurut Azzahra *et al.* (2016) menghitung viabilitas dengan rumus:

$$\text{Viabilitas} = \frac{\text{jumlah sperma hidup}}{\text{jumlah sperma diamati}} \times 100\%$$

3.4.11 Pemeriksaan abnormalitas spermatozoa

Pemeriksaan abnormalitas spermatozoa dilakukan dengan cara:

1. meneteskan satu tetes eosin 2% pada ujung gelas objek;
2. meneteskan semen beku yang telah dicampur dengan bahan pengencer secara berturut-turut (P0, P1, P2 dan P3);
3. menempelkan ujung gelas objek yang lain atau ujung gelas penutup pada kedua cairan sehingga keduanya bercampur, kemudian didorong ke ujung gelas objek;
4. mengeringkan preparat ulas dengan cara menggerakkan di atas nyala lilin atau pemanas bunsen;
5. memeriksa sperma yang abnormal bisa dilakukan dengan perbesaran sedang (10x40) spermatozoa yang abnormal ditandai dengan bentuk sperma tanpa kepala, kepala tanpa ekor, ekor melingkar, kepala ganda. Jumlah spermatozoa yang dihitung minimal 200 sel (Hartono *et al.*, 2020);
6. menurut Ridwan (2007), menghitung sperma abnormal dapat dilakukan dengan menggunakan rumus:

$$\text{spermatozoa abnormal} = \frac{\text{jumlah sperma abnormal}}{\text{jumlah sperma diamati}} \times 100\%$$

3.5 Peubah yang Diamati

Peubah yang diamati adalah:

1. motilitas spermatozoa;
2. viabilitas spermatozoa;
3. abnormalitas spermatozoa.

Data peubah diambil pada semen segar, setelah *equilibrasi (test before freezing)*, dan setelah dibekukan (*post thawing quality*).

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dari masing-masing perlakuan pada semen segar dan setelah *equilibrasi (test before freezing)* dianalisis deskriptif, sedangkan data setelah pembekuan (*post thawing quality*) dianalisis statistika menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) dengan taraf 5% kemudian dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perlakuan yang memberikan pengaruh terbaik pada kualitas semen.

V. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan:

1. Penggunaan bahan pengencer tris kuning telur yang ditambahkan vitamin C dan vitamin E berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap motilitas dan berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap viabilitas namun tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap abnormalitas spermatozoa.
2. Penggunaan vitamin C 0,5 g/100 ml dalam pengencer tris kuning telur menunjukkan nilai tertinggi dalam mempertahankan motilitas dan viabilitas spermatozoa sapi Brahman sampai *post thawing*.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai keberhasilan pelaksanaan inseminasi buatan menggunakan semen beku yang diencerkan dengan pengencer tris kuning telur dengan penambahan vitamin C dan vitamin E.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdillah, L. 2018. Pengaruh Penambahan Antioksidan Vitamin C dan Vitamin E dalam Bahan Pengencer Sitrat Kuning Telur dan Andromed terhadap Kualitas Sperma Beku Domba Ekor Gemuk. Tesis. Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Abdullah, M. A. N., K. Fatah, dan Dasrul. 2018. Perbandingan kualitas semen beku sapi unggul dan hubungannya dengan tingkat keberhasilan inseminasi buatan pada Sapi Aceh. *Agripet*, 18(1): 10—17.
- Abidin, Z. 2010. Penggemukan Sapi Potong. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Aboagla, E. M. E. and T. Terada. 2004. Effects of supplementation of trehalosa extender containing egg yolk with sodium dodecyl sulfate on the freezability of goat spermatozoa. *Theriogenology*, 62(5): 809—818.
- Affandhy, L. 2003. Pengaruh Penambahan Kolesterol dan Kuning Telur di dalam Bahan Pengencer Tris-Sitrat dan Air Kelapa Muda terhadap Kualitas Semen Cair Sapi Potong. hlm. 77—83. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner, Bogor, 29- 30 September 2003.
- Alawiyah, D. dan M. Hartono. 2006. Pengaruh penambahan Vitamin E dalam bahan pengencer sitrat kuning telur terhadap kualitas semen beku Kambing Boer. *Jurnal Pengembangan Peternakan Tropis*, 31(1): 8—14.
- Arifiantini, R. I., T. Wresdiyati, dan E. F. Retnani. 2006. Pengujian morfologi spermatozoa sapi Bali (*Bos sondaicus*) menggunakan Pewarnaan “Williams”. *Journal Indonesian Tropical Animal Agriculture*, 31(2): 105—110.
- Aslam, H.A., Dasrul, dan Rosmaidar. 2014. Pengaruh penambahan Vitamin C dalam pengencer Andromed terhadap persentase motilitas dan membran plasma utuh spermatozoa sapi Aceh setelah pembekuan. *Jurnal Medika Veterinaria*, 8(1): 20—26.
- Astuti, S. 2012. Isoflavon kedelai dan potensinya sebagai penangkap radikal bebas. *Jurnal Teknologi dan Industri Hasil Pertanian*, 13(2): 126—136.

- Azawi, O. I. and E. K. Hussein. 2013. Effect of Vitamins C or E supplementation to tris diluent on the semen quality of awassi rams preserved at 5°C. *Veterinary Research Forum*, 4(3): 157—160.
- Azzahra, F. Y., E. T. Setiatin, dan D. Samsudewa. 2016. Evaluasi motilitas dan presentase hidup semen segar sapi PO Kebumen pejantan muda. *Jurnal Sains Peternakan Indonesia*, 11(2): 99—107.
- Badan Pusat Statistik. 2022. Kebutuhan Daging dalam Negeri Tahun 2022. *Peternakan Dalam Data*. Jakarta.
- Badan Standarisasi Nasional. 2017. Semen Beku-Bagian 1: Sapi. Badan Standarisasi Nasional. Jakarta.
- BIB Poncowati. 2021. Petunjuk Teknis Pengolahan Semen Beku. Lampung Tengah. Provinsi Lampung.
- Beconi, M. T., C. R. Frarcia, N. G. Mora, and M. A. Affranchino. 1993. Effect of natural antioxidant on frozen bovine semen preservation. *Theriogenology*, 40(4): 841—851.
- Bintara, S. 2011. Rasio spermatozoa x:y dan kualitas sperma pada kambing Kacang dan Peranakan Etawa. *Sains Peternakan*, 9(2): 65—71.
- Blakely, J. and D. H. Bade. 1992. Ilmu Peternakan IV. Terjemahan: B. Srigandono. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Breining, E., N. B. Beorlegui, and C. M. Oflaherty. 2005. Alpha-tocopherol improves biochemical and dynamic parameters in cryopreserved boar semen. *Theriogenology*, 63(8): 2126—2135.
- Campbell, J. R., M. D. Kenealyand, and K. L. Campbell. 2003. Anatomy and Physiology of Reproduction and Related Technologies in Farm Mammals. Animal Sceiences. The Biology, Care and Production of Domestic Animals McGraw-Hill Companies Inc. New York
- Destriani, S. 2021. Pengaruh Penambahan Vitamin C dalam Pengencer Tris Kuning Telur terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Brahman setelah Thawing. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya. Sumatera Selatan.
- Fair, S., D. N. Doyle, M. G. Diskin, A. A. Hennessy, and D. A. Kenny. 2014. The effect of dietary n-3 polyunsaturated fatty acids supplementation of rams on semen quality and subsequent quality of liquid stored semen. *Theriogenology*, 81(2): 210—219.
- Feradis, M. P. 2010. Bioteknologi Reproduksi pada Ternak. Alfabeta. Bandung.

- Fitrianti, I. N., A. Rachmawati, dan Suyadi. 2012. Pengaruh Glutation dalam Pengencer Tris Aminomethane Kuning Telur Gliserol terhadap Kualitas Pembekuan Cepat. Universitas Brawijaya. Malang.
- Garner, D. L. and E. S. E. Hafez. 2000. Spermatozoa and Seminal Plasma. In *Reproduction in Farm Animals*. E.S.E. Hafez (Eds.). 6th Ed. Lea and Febiger. Philadelphia.
- Gordon, M. H. 1990. *The Mechanism of Antioxidants Action in Vitro*. Elviesier Applied Science. London.
- Hafez, E. S. E. 1993. Semen Evaluation In: *Reproduction In Farm Animals*. 6th Ed. Hafez, E.S.E. (Ed.) Lea and Febiger. Philadelphia.
- Hafez, E. S. E. 2000. Spermatozoa and Seminal Plasma. In. *Reproduction in Farm Animals*. E.S.E. Hafez (Eds.). 6th Ed. Lea and Febiger. Philadelphia.
- Hafez, E. S. E. 2008. Spermatozoa and Seminal Plasma. In. *Reproduction in Farm Animals*. E.S.E. Hafez (Eds.). 7th Ed. Lea and Febiger. Philadelphia.
- Hartono, M. 2008. Optimalisasi penambahan Vitamin E dalam pengencer sitrat kuning telur untuk mempertahankan kualitas semen Kambing Boer. *Journal Indonesian Tropical Animal Agriculture*, 33(1): 11—19.
- Hartono, M., S. Suharyati, P. E. Santosa, dan Siswanto. 2020. *Penuntun Praktikum Teknologi Reproduksi Ternak*. Jurusan Peternakan. Fakultas Pertanian. Universitas Lampung. Lampung
- Haryanto. 1996. *Pengawetan Telur Segar*. Kanisius. Yogyakarta.
- Hashem, E. Z., R. Haddad, and M. Eslami. 2017. Evaluation of ram semen enrichment with oleic acid on different spermatozoa parameters during low temperature liquid storage. *Small Ruminant Research*, 150(4): 30—39
- Herdiawan, I. 2004. Pengaruh laju penurunan suhu dan jenis pengencer terhadap kualitas semen beku Domba Priangan. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*, 9(2): 98—107.
- Inonie, R. I., L. O. Baa, dan T. Saili. 2016. Kualitas spermatozoa Kambing Boerawa dan Kambing Kacang pada penggunaan tris-kuning telur yang berbeda. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan Tropis*, 3(1): 52—64.
- Ismaya. 2014. *Bioteknologi Inseminasi Buatan Pada Sapi dan Kerbau*. UGM Press. Yogyakarta.

- Mayes, P. A. 1995. Glukoneogenesis dan Pengendalian Kadar Glukosa Darah, dalam Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A., dan Rodwell, V. M., (Eds) Biokimia Harper, Diterjemahkan oleh Andry Hartono, Edisi XXII. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Nur, N. E. 2019. Pengaruh Pengencer Tris Kuning Telur Itik dan Konsentrasi Spermatozoa Berbeda terhadap Kualitas Semen Sapi Bali. Skripsi. Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Praditasari, A. 2017. Metode uji aktivitas antioksidan secara in vitro pada ekstrak tanaman. *Farmaka*, 14(4): 1—12.
- Putra, I. M. H., W. Bebas, dan M. K. Budiasa. 2019. Pengaruh penambahan berbagai konsentrasi Vitamin E pada pengencer fosfat kuning telur terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa puyuh. *Buletin Veteriner Udayana*, 11(1): 58—64.
- Ridwan. 2007. Pengaruh pengencer semen terhadap abnormalitas dan daya tahan hidup spermatozoa kambing lokal pada penyimpanan suhu 5°C. *Jurnal Agroland*, 16(2): 187—192.
- Riyadhi, M., M. Rizal, dan A. Wahdi. 2017. Diseminasi Teknologi Inseminasi Buatan Menggunakan Semen Kambing Peranakan Etawa (PE) dengan Pengencer Air Kelapa Muda dan Kuning Telur di Kecamatan Bati Kabupaten Tanah Laut Kalimantan Selatan. Laporan Penelitian. Jurusan Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Lambung Mangkurat. Banjarbaru.
- Rizal, M. dan Herdis. 2008. Inseminasi Buatan pada Domba. Rineka Cipta. Jakarta.
- Sarwono, B. 1995. Pengawetan Telur dan Manfaatnya. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Savitri, F. K., S. Suharyati, dan Siswanto. 2014. Kualitas semen beku Sapi Bali dengan penambahan berbagai dosis Vitamin C pada bahan pengencer skim kuning telur. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*, 2(3): 30—36.
- Selk, G. 2007. Artificial Insemination For Beef Cattle. Division Of Agricultural Sciences And Natural Resources. Oklahoma State University. USA.
- Situmorang, P. 1991. Meningkatkan Produksi Ternak Kerbau melalui Inseminasi Buatan (IB). Makalah Seminar Aplikasi Teknologi. Medan.
- Steinbach, J. and R. H. Foote. 1967. Osmotic pressure and pH effects on survival of frozen or liquid spermatozoa. *Jurnal Dairy Sci*, 50(2): 205—213.
- Sudarmono, A. S. dan Y. B. Sugeng. 2008. Sapi Potong. Edisi Revisi. Penebar Swadaya. Semarang.

- Sukmawati, E., R. I. Arifiantini, dan B. Purwantara. 2014. Daya tahan spermatozoa terhadap proses pembekuan pada berbagai jenis sapi pejantan unggul. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*, 19(3): 168—175.
- Susilawati, T. 2003. Spermatologi. UB Press. Malang.
- Toelihere, M. R. 1993. Inseminasi Buatan pada Ternak. Angkasa. Bandung.
- Umami, H. M. 2009. Pengaruh Pemberian Minyak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) terhadap Jumlah Spermatozoa Mencit Hiperlipidemia. Laporan Penelitian. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Winarsi, H. 2007. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Kanisius. Yogyakarta.
- Wiratri, V. D. B., T. Susilawati, dan S. Wahjuningsih. 2014. Kualitas semen Sapi Limousin pada pengencer yang berbeda selama pendinginan. *Jurnal Ternak Tropika*, 15(1): 13—20.
- Yahaq, M. A., Y. S. Ondho, dan Sutiyono. 2019. Pengaruh Vitamin C dalam Pengencer Semen Sapi Limousin yang Dibekukan. Skripsi. Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro. Semarang.