

**KUALITAS SEMEN BEKU SAPI BRAHMAN DENGAN
PENAMBAHAN VITAMIN C DAN E PADA BAHAN
PENGECER SUSU SKIM**

SKRIPSI

Oleh

**FATMA NILAM SARI
1914141051**



**JURUSAN PETERNAKAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
2023**

ABSTRAK

KUALITAS SEMEN BEKU SAPI BRAHMAN DENGAN PENAMBAHAN VITAMIN C DAN E PADA BAHAN PENGECER SUSU SKIM

Oleh

FATMA NILAM SARI

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan vitamin C dan E pada bahan pengencer susu skim terhadap kualitas semen beku sapi Brahman serta mengetahui perlakuan terbaik penambahan vitamin C dan E pada bahan pengencer susu skim. Penelitian ini dilaksanakan pada 23 Januari sampai 03 Februari 2023 di Laboratorium Unit Pelayanan Tekhnis Balai Inseminasi Buatan Daerah (UPTBIBD) Lampung Tengah. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 6 ulangan. Adapun perlakuan meliputi P0: Tanpa Penambahan vitamin C dan vitamin E; P1: Penambahan vitamin C sebanyak 250 mg/100 ml; P2: Penambahan vitamin E sebanyak 0,41 g/100 ml pengencer; dan P3: Penambahan kombinasi vitamin C sebanyak 250 mg/100 ml dan vitamin E sebanyak 0,41 g/100 ml pengencer. Data yang diperoleh di analisis ragam dengan taraf 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan vitamin C dan vitamin E pada bahan pengencer susu skim tidak berbeda nyata ($P>0,05$) terhadap kualitas semen beku sapi Brahman. Rataan nilai motilitas secara berturut-turut (43,83%; 47,16%; 45,66%; 42,66%), presentase spermatozoa hidup secara berturut-turut (79,92%; 81,66%; 80,23%; 79,12%) dan abnormalitas secara berturut-turut (9,36%; 8,73%; 8,88%; 9,68%). Dapat disimpulkan bahwa penambahan vitamin C dan E dengan dosis masing-masing perlakuan pada bahan pengencer susu skim memberikan hasil yang sama dengan tanpa pemberian vitamin C dan E terhadap motilitas, persentase hidup dan abnormalitas spermatozoa semen beku sapi Brahman.

Kata Kunci: Sapi Brahman, Skim susu, Spermatozoa, Vitamin C, Vitamin E.

ABSTRACT

Frozen Semen Quality of Brahman Cattle the Addition of Vitamin C and E in Skim Milk Diluents

By

Fatma Nilam Sari

This study aims to determine the effect of the addition of vitamins C and E in skim milk diluents on the quality of frozen semen of Brahman cows and to determine the best treatment for the addition of vitamins C and E in skim milk diluents. This research was conducted from January 23 to February 03, 2022 at the Technical Service Unit Laboratory of the Regional Artificial Insemination Center (UPTBIBD) Central Lampung. This study used a completely randomized design (CRD) with 4 treatments and 6 replicates. The treatments include P0: Without the addition of vitamin C and vitamin E; P1: Addition of vitamin C as much as 0,25 g/100 ml; P2: Addition of vitamin E as much as 0.41 g/100 ml diluent; and P3: Addition of a combination of vitamin C as much as 0,25 g/100 ml and vitamin E as much as 0.41 g/100 ml diluent. The data obtained in the analysis of variance with a level of 5%. The results showed that the addition of vitamin C and vitamin E in skim milk diluent was not significantly different ($P>0.05$) from Brahman cattle frozen semen quality. The average value of motility was (43.83%; 47.16%; 45.66%; 42.66%), percentage of live spermatozoa (79.92%; 81.66%; 80.23%; 79.12%) and abnormality (9.36%; 8.73%; 8.88%; 9.68%) respectively. It can be concluded that the addition of vitamins C and E at the dose of each treatment in skim milk diluent gives the same results on motility, percentage of live and abnormalities of frozen semen of Brahman cattle.

Keywords: Brahman Cattle, Vitamin C, Vitamin E, Skim milk, Spermatozoa.

**KUALITAS SEMEN BEKU SAPI BRAHMAN DENGAN
PENAMBAHAN VITAMIN C DAN E PADA BAHAN PENGECER
SUSU SKIM**

Oleh

FATMA NILAM SARI

Skripsi

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

pada

**Jurusan Peternakan
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**JURUSAN PETERNAKAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
2023**

Judul Skripsi : **KUALITAS SEMEN BEKU SAPI
BRAHMAN DENGAN PENAMBAHAN
VITAMIN C DAN E PADA BAHAN
PENGECER SUSU SKIM**

Nama : **Fatma Nilam Sari**

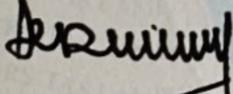
Nomor Pokok Mahasiswa : 1914141051

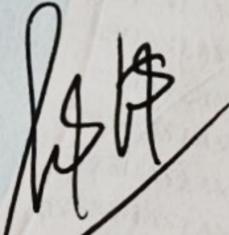
Program Studi : **Peternakan**

Fakultas : **Pertanian**

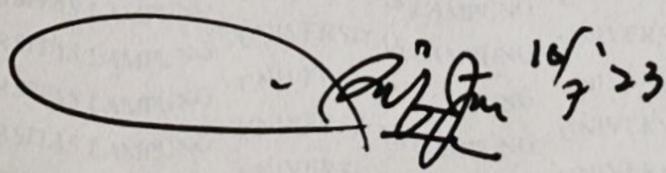


Menyetujui
1. *Komisi Pembimbing*


Sri Suharyati, S.Pt., M.P.
NIP 196807281994022002


drh. Madi Hartono, M.P.
NIP 196607081992031004

2. **Ketua Jurusan Peternakan**


Dr. Ir. Arif Qisthon, M.Si.
NIP 196706031993031002

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

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

Sri Suharyati

Sekretaris : drh. Madi Hartono, M.P.

Madi Hartono

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

Siswanto

2. Dekan Fakultas Pertanian



Prof. Dr. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.
NIP. 196110201986031002

Irwan Sukri Banuwa

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 29 Mei 20023

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, 23 Juni 2023

Yang Membuat Pernyataan



Fatma Nilam Sari
NPM 1914141051

RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama lengkap Fatma Nilam Sari lahir di Pringsewu pada 23 September 2001. Penulis merupakan anak kedua dari 2 bersaudara dari pasangan Bapak Gunawan dengan Ibu Haryanti. Pendidikan yang telah ditempuh oleh penulis, Sekolah Dasar (SD) Negeri Sinar Jati pada 2007--2013, Sekolah Menengah Pertama (SMP) Diniyyah Putri Lampung pada 2013--2016, Sekolah Menengah Atas (SMA) Global Madani 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 Januari--Februari 2022 penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Cimanuk Kecamatan Waylima, Kabupaten Pesawaran. Penulis juga melaksanakan Praktik Umum di CV. Bhumi Nararya Farm, Desa Kemiri Kebo, Kecamatan Turi, Kabupaten Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta pada Juli--Agustus 2022.

MOTTO

“Hiduplah sebagai dirimu sendiri”

(Penulis)

“Ingin menjadi orang lain adalah menyia-nyiakan dirimu”

(Kurt Cobain)

PERSEMBAHAN

Alhamdulillah rabbil'alamin, puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya serta sholawat dan salam selalu dijunjungkan agungkan kepada Nabi Muhammad SAW sebagai pemberi syafaat di hari akhir.

Kupersembahkan skripsi ini dengan segala perjuangan, ketulusan dan kerendahan hati kepada kedua orang tuaku tercinta Bapak Gunawan dan Ibu Haryanti yang telah membesarkan, memberi kasih sayang tulus, senantiasa mendoakan, dan membimbing dengan penuh kesabaran

Saudara kandungku Kakak Retno Sari almh dan Adik Rifan Tri Gunawan serta Seseorang yang mencintai lebihhanku dan menerima kekuranganku

Keluarga besar dan sahabat-sahabatku untuk semua doa, dukungan, dan kasih sayangnya

Serta

Institusi yang turut membuat dan memberi banyak pengalaman untuk diriku sehingga menjadi pribadi yang lebih baik dalam berpikir maupun bertindak.

Alamamater kampus hijau tercinta yang selalu kubanggakan dan kucintai

UNIVERSITAS LAMPUNG

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 “Kualitas Semen Beku Sapi Brahman Dengan Penambahan Vitamin C dan E Pada Bahan Pengencer Susu Skim” 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 --atas bimbingan dan arahan yang telah diberikan;
3. Ibu Fitria Tsani Farda, S.Pt., M.Si.--selaku pembimbing akademik--atas bimbingan yang telah diberikan selama masa studi;
4. Ibu Sri Suharyati, S.Pt., M.P.--selaku pembimbing Utama sekaligus Ka. PS Peternakan--atas bimbingan, saran, nasihat, dan ilmu yang diberikan selama penyusunan skripsi;
5. Bapak drh, Madi Hartono, M.P.--selaku pembimbing anggota--atas bimbingan, saran, nasihat, dan ilmu yang diberikan selama penyusunan skripsi;
6. Bapak Siswanto, S.Pt., M.Si.--selaku pembahas--atas arahan, bimbingan dan nasihat yang telah diberikan selama masa studi;
7. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung atas bimbingan dan ilmu yang telah diberikan kepada penulis;

8. Kepala Balai Inseminasi Buatan Daerah Lampung Tengah beserta staff yang telah membantu penulis dalam melaksanakan penelitian dan memfasilitasi tempat serta segala sesuatu yang berkaitan dengan penelitian hingga penulis menyelesaikan penelitian dengan lancar;
9. Bapak Gunawan dan Ibu Haryanti atas segala doa, semangat, pengorbanan, dan kasih sayang yang tulus sehingga penulis bisa sampai di titik ini;
10. Kakak Retno Sari almh dan adik Rifan Tri Gunawan yang selalu memberikan dukungan serta semangat selama ini kepada penulis;
11. Sahabat seperjuangan Bripda Reno Akbar Pratama yang selalu menemani penulis dalam keadaan susah ataupun senang;
12. Sahabat seperjuangan Olivia Putri Saybila, Regina Rinjani, Shafira Fadia Salwa, Rizka Novita, Lefina Jenifera, Dyah Ayu Rahma dan Fippy Hidayati;
13. Sahabat seperjuangan Rhica Dhea, Sindi Wiranti, Dwi Risma, Robby Agung dan M. Aiyon;
14. Teman-teman seperjuangan kelompok penelitian semen Agus Nurwahid, Tegar Wijaya Putra, Mahfud Rivai, Eri Febriyansar dan Hanip Rangga Saputra atas waktu, tenaga, pikiran, semangat, motivasi dan kerja sama tim dalam penelitian sehingga penulis bisa pada tahap ini;
15. Keluarga besar “Angkatan 2019” atas kenangan indah selama masa studi serta motivasi yang diberikan kepada penulis;
16. 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

Penulis

Fatma Nilam Sari

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang dan Masalah.....	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	4
1.3 Manfaat Penelitian.....	4
1.4 Kerangka Pemikiran.....	
1.5 Hipotesis.....	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Sapi Brahman.....	7
2.2 Kualitas Semen.....	8
2.3 Motilitas Sperma.....	10
2.4 Persentase Sperma Hidup.....	11
2.5 Abnormalitas Sperma.....	11
2.6 Pengencer Susu Skim.....	12
2.7 Vitamin C.....	13
2.8 Vitamin E.....	14
III. METODE PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat.....	16
3.2 Alat dan Bahan.....	16
3.2.1 Alat.....	16
3.2.2 Bahan.....	16
3.3 Rancangan Penelitian.....	17
3.4 Pelaksanaan Penelitian.....	17

3.4.1 Pembuatan pengencer Susu Skim.....	17
3.4.2 Penampungan semen.....	18
3.4.3 Evaluasi semen segar.....	19
3.4.3.1 Pemeriksaan makroskopis.....	19
3.4.3.2 Pemeriksaan mikroskopis.....	19
3.4.4 Pengenceran semen.....	20
3.4.5 <i>Printing straw</i>	20
3.4.6 <i>Filing dan sealing</i>	21
3.4.7 Ekuilibrasi.....	22
3.4.8 <i>Test</i> pasca ekuilibrasi.....	23
3.4.9 <i>Prefreezing</i>	23
3.4.10 <i>freezing</i>	23
3.4.11 <i>Post thawing</i>	23
3.5 Peubah yang diamati.....	24
3.5.1 Motilitas Spermatozoa.....	24
3.5.2 Persentase Spermatozoa Hidup.....	24
3.5.3 Abnormalitas Spermatozoa.....	25
3.6 Analisis Data.....	26
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Penilaian Kualitas Semen Segar Sapi Brahman.....	27
4.2 Pengaruh Penambahan Vitamin C dan E Pasca Ekuilibrasi.....	30
4.2.1 Motilitas.....	30
4.2.2 Persentase Spermatozoa Hidup.....	32
4.2.3 Abnormalitas.....	33
4.3 Pengaruh Penambahan Vitamin C dan E <i>Post Thawing</i>	34
4.3.1 Motilitas.....	34
4.3.2 Persentase spermatozoa hidup.....	36
4.3.3 Abnormalitas.....	38
V. KESIMPULAN	
5.1 Kesimpulan.....	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Penilaian makroskopis dan mikroskopis semen segar sapi Brahman.....	27
2. Hasil pengamatan mikroskopis semen setelah ekuilibrasi.....	30
3. Hasil pengamatan motilitas spermatozoa (<i>Post thawing motility</i>)	34
4. Hasil pengamatan presentase spermatozoa hidup (<i>Post thawing</i>).....	37
5. Hasil pengamatan abnormalitas spermatozoa (<i>Post thawing</i>).....	39
6. Hasil pengamatan motilitas spermatozoa.....	46
7. Hasil analisis ragam motilitas spermatozoa.....	46
8. Hasil pengamatan persentase spermatozoa hidup.....	46
9. Hasil analisis ragam persentase spermatozoa hidup.....	46
10. Hasil pengamatan abnormalitas spermatozoa.....	47
11. Hasil analisis ragam abnormalitas spermatozoa.....	47

DAFTAR GAMBAR

Tabel	Halaman
1. Sapi Brahman	8
2. Persentase hidup spermatozoa segar	48
3. Abnormalitas spermatozoa P2 (Setelah ekuilibrasi)	48
4. Persentase hidup spermatozoa P0 (Setelah ekuilibrasi)	49
5. Abnormalitas spermatozoa P3 (Setelah ekuilibrasi)	49

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang dan Masalah

Jumlah penduduk yang terus meningkat menyebabkan peningkatan kebutuhan protein hewani, semakin banyak jumlah penduduk Indonesia maka semakin tinggi juga kebutuhan protein hewani. Pemenuhan protein hewani dapat dilakukan dengan cara meningkatkan produksi daging ternak. Salah satu ternak penghasil daging adalah sapi potong.

Menurut Hardjosubroto (1984), sapi Brahman banyak dipilih untuk dikembangkan di dunia karena mempunyai daya tahan dan kemampuan beradaptasi yang tinggi, banyak dimanfaatkan dalam program *cross breeding*, lebih resisten terhadap penyakit, tahan terhadap panas, kemampuan berjalan yang tinggi sehingga merupakan pekerja yang baik, tahan terhadap kekeringan dan umur produksi panjang. Keunggulan-keunggulan harus didorong dengan kemajuan teknologi khususnya teknologi reproduksi.

Upaya untuk memajukan teknologi reproduksi untuk pengembangan sapi Brahman salah satunya yaitu dengan teknik Inseminasi Buatan (IB). Inseminasi Buatan merupakan proses memasukkan sperma pejantan ke dalam saluran reproduksi betina dengan tujuan untuk membuat betina menjadi bunting tanpa adanya proses perkawinan alami.

Salah satu faktor yang mempengaruhi keberhasilan inseminasi buatan adalah semen beku. Semen beku merupakan semen yang telah diberi bahan pengencer yang mengandung nutrisi yang dibutuhkan oleh spermatozoa agar dapat tetap

hidup dan mampu bertahan di suhu beku selama proses penyimpanan dan *thawing*.

Penurunan kualitas semen mempengaruhi keberhasilan IB yang akan dilakukan. Masalah utama dalam proses pembuatan semen beku adalah berkurangnya kualitas spermatozoa terutama pada saat proses kriopreservasi. Menurut Andryansyah dkk. (2020), kriopreservasi spermatozoa merupakan proses berurutan mulai dari penurunan temperatur, dehidrasi, pembekuan, penyimpanan, dan *thawing*. Proses kriopreservasi ini dapat menurunkan kualitas spermatozoa yang dapat merusak integritas spermatozoa, menurunkan motilitas, perubahan struktur dan fungsi membran serta metabolisme sel.

Semen beku yang dihasilkan harus memiliki kualitas yang bagus sehingga dibutuhkan nutrisi tambahan yang dapat ditambahkan ke dalam pengencer semen yang bertujuan untuk melindungi spermatozoa dari pengaruh radikal bebas yang timbul selama proses pembekuan, penyimpanan dan *thawing*. Menurut Salisbury dan Van Demark (1985), susu skim merupakan bahan pengencer yang banyak digunakan karena dapat melindungi spermatozoa dari kejutan dingin dengan daya pelindung berupa lipoprotein dan lesitin yang bekerja pada selubung lipoprotein sel sperma, disamping itu susu skim juga mengandung glukosa, bermacam-macam protein vitamin yang larut dalam lemak yang menguntungkan bagi sel spermatozoa.

Kematian spermatozoa yang tinggi pada proses pengolahan semen menurut Herdis (2005), disebabkan oleh rusaknya membran plasma spermatozoa akibat peroksida lipid. Maxwell dan Watson (1996) juga berpendapat bahwa kematian spermatozoa terjadi karena membran spermatozoa banyak mengandung lemak tak jenuh yang sangat rentan terhadap reaksi peroksidasi lipid. Reaksi peroksida lipid yang dapat merusak spermatozoa dalam proses pengolahan semen terjadi karena kontak antara semen dan oksigen (O₂). Proses tersebut dapat menghasilkan radikal bebas dan hidrogen peroksida. Radikal bebas jika bereaksi dengan asam lemak tak jenuh akan menghasilkan lipid peroksida.

Rizal dan Herdis (2010) menyatakan bahwa radikal bebas adalah senyawa kimia yang memiliki elektron tak berpasangan dan bersifat sangat reaktif. Maxwell dan Watson (1996) berpendapat bahwa kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas dan peroksida lipid ini dapat menurunkan tingkat motilitas dan daya hidup spermatozoa. Penambahan antioksidan dalam pengencer semen dilakukan untuk meminimalisir atau menekan kerusakan membran spermatozoa akibat radikal bebas.

Upaya untuk menjaga kualitas semen dari radikal bebas dapat dilakukan dengan pemberian vitamin C dan E. Vitamin C atau asam askorbat termasuk dalam antioksidan yang mampu memutus rantai reaksi radikal bebas. Vitamin C mempunyai kemampuan menguatkan kestabilan jaringan pelindung membran plasma terhadap peroksida lipid, sehingga dapat mempertahankan kualitas dan fertilitas semen. Menurut Suryohudoyo (2000), vitamin C atau asam askorbat termasuk dalam antioksidan yang mampu memutus rantai reaksi radikal bebas. Vitamin C mempunyai kemampuan menguatkan kestabilan jaringan pelindung membran plasma terhadap peroksida lipid, sehingga dapat mempertahankan kualitas dan fertilitas semen.

Vitamin E mengandung zat antioksidan yang mampu mempertahankan kualitas spermatozoa. Aggarwal dkk. (2005) menyatakan bahwa Vitamin E berperan sebagai antioksidan dan dapat melindungi kerusakan membran biologis akibat radikal bebas.

Sampai saat ini belum ada penelitian mengenai pengaruh penambahan vitamin C dan E terhadap kualitas semen sapi Brahman pada bahan pengencer susu skim. Berdasarkan hal tersebut perlu dilakukan penelitian tentang kualitas semen sapi Brahman dengan penambahan vitamin C dan E pada bahan pengencer susu skim

1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. mengetahui pengaruh penambahan vitamin C dan E pada bahan pengencer susu skim terhadap kualitas semen beku sapi Brahman;
2. mengetahui perlakuan terbaik penambahan vitamin C dan E pada bahan pengencer susu skim.

1.3 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada praktisi mengenai kualitas semen beku pada sapi Brahman dengan penambahan vitamin C dan E pada bahan pengencer susu skim.

1.4 Kerangka Pemikiran

Sapi Brahman banyak dipilih masyarakat untuk dikembangkan karena proses pemeliharaannya yang mudah, tahan terhadap suhu panas, mudah dikawinkan dengan berbagai macam bangsa sapi dan tahan terhadap penyakit. Keunggulan-keunggulan tersebut harus didukung dengan kemajuan teknologi reproduksi yang unggul agar menambah angka produktivitas demi menunjang kebutuhan konsumsi masyarakat Indonesia.

Salah satu kemajuan teknologi reproduksi yang dapat dimanfaatkan adalah metode 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. Keberhasilan Inseminasi Buatan (IB) dapat dicapai apabila semen yang diinseminasikan berkualitas baik. Hal tersebut dapat dilakukan dengan cara pengawetan semen yaitu dengan melakukan pengenceran semen dan pembekuan semen.

Proses pembekuan semen dibutuhkan larutan pengencer untuk meningkatkan volume semen dan mempertahankan daya hidup spermatozoa selama

penyimpanan. Susu skim merupakan bahan pengencer yang banyak digunakan karena dapat melindungi spermatozoa dari kejutan dingin dengan daya pelindung berupa lipoprotein dan lesitin yang bekerja pada selubung lipoprotein sel sperma, disamping itu susu skim juga mengandung glukosa, bermacam-macam protein vitamin yang larut dalam lemak yang menguntungkan bagi sel spermatozoa. Berdasarkan hasil penelitian Hoesni (2016) pengencer susu skim dengan tris kuning telur mempunyai kandungan penyangga yang terdapat dalam pengencer, yang dapat menetralkan hasil metabolisme seperti asam laktat sehingga spermatozoa dapat bertahan hidup. Pengencer susu skim sampai taraf 15% memberikan hasil yang terbaik sehingga mampu menekan laju penurunan daya tahan hidup spermatozoa sapi.

Kualitas semen beku sering rusak akibat paparan senyawa radikal bebas. Menurut Rizal dan Herdis (2010), radikal bebas adalah senyawa kimia yang memiliki elektron tak berpasangan dan bersifat sangat reaktif. Maxwell dan Watson (1996) berpendapat bahwa kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas dan peroksida lipid ini dapat menurunkan tingkat motilitas dan daya hidup spermatozoa. Penambahan antioksidan dalam pengencer semen dilakukan untuk meminimalisir atau menekan kerusakan membran spermatozoa akibat radikal bebas.

Antioksidan yang bisa digunakan untuk melindungi spermatozoa dari radikal bebas adalah vitamin C dan E. Vitamin C dan E mampu memutuskan rantai reaksi radikal bebas. Vitamin tersebut mempunyai kemampuan menguatkan kestabilan jaringan pelindung membran plasma terhadap peroksida lipid sehingga dapat mempertahankan kualitas dan fertilitas semen.

Vitamin C atau asam askorbat termasuk dalam antioksidan yang mampu memutuskan rantai reaksi radikal bebas. Vitamin C mempunyai kemampuan menguatkan kestabilan jaringan pelindung membran plasma terhadap peroksida lipid, sehingga dapat mempertahankan kualitas dan fertilitas semen. Menurut Aurich dkk. (1997), vitamin C dengan dosis 200 mg/100 ml pengencer mampu berperan melindungi membran plasma spermatozoa dari kerusakan membran plasma akibat peroksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas. Ditambahkan hasil

penelitian Yahaq dkk. (2019), penambahan vitamin C dengan dosis 250 mg/100 ml pengencer mampu mempertahankan persentase motilitas *post thawing* yang tinggi.

Vitamin E mengandung zat antioksidan yang mampu mempertahankan kualitas spermatozoa. Aggarwal dkk. (2005), menyatakan bahwa Vitamin E berperan sebagai antioksidan dan dapat melindungi kerusakan membran biologis akibat radikal bebas. Ditambahkan hasil penelitian Alawiyah dan Hartono (2006) bahwa penambahan vitamin E dengan dosis 0,1--0,4 g/100 ml bahan pengencer cenderung meningkatkan jumlah sperma yang hidup.

1.5 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah :

1. terdapat pengaruh perlakuan penambahan vitamin C dan E pada bahan pengencer susu skim terhadap kualitas semen beku sapi Brahman terhadap kualitas semen (motilitas spermatozoa, persentase hidup spermatozoa dan abnormalitas spermatozoa);
2. terdapat perlakuan terbaik dari pengenceran susu skim yang ditambah vitamin C dan E terhadap kualitas semen (motilitas spermatozoa, persentase hidup spermatozoa dan abnormalitas spermatozoa).

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sapi Brahman

Bangsa sapi Brahman dikembangkan di Amerika Serikat dengan mengawinkan tiga bangsa sapi India yaitu bangsa-bangsa Gir, Guzerat dan Nellore. Sapi Brahman merupakan bangsa sapi ukuran medium, pedetnya juga berukuran berat medium, namun berat sapi umumnya termasuk ringan. Sapi ini bertanduk dan warnanya bervariasi mulai ari abu-abu muda, total-totol, sampai hitam. Punuk pada punggung di belakang kepala, yang merupakan kelanjutan dari otot-otot pundak dengan telinga yang berpendulous panjang, serta adanya pendulous yang longgar sepanjang leher. Sapi Brahman mempunyai sifat-sifat yang hanya dimiliki oleh beberapa bangsa sapi tertentu, yaitu ketahanannya terhadap kondisi tatalaksana yang sangat minimal, toleransi terhadap panas, kemampuannya untuk mengasuh anak, daya tahan terhadap kondisi yang jelek seperti penyakit dan parasit. Sapi Brahman banyak digunakan untuk persilangan dengan sapi-sapi lain. Kelemahan yang dimiliki oleh bangsa sapi ini adalah toleransi terhadap suhu udara yang rendah, masak lambat serta rendahnya fertilitas (Blakely dan Bade, 1991).

Sapi Brahman adalah tipe sapi potong dengan persentase karkas 45--50 %. Bobot sapi Brahman jantan berkisar antara 800--1.100 kg, sedangkan betinanya sekira 500--700 kg. Saat lahir, anak sapi Brahman berbobot 30 kg dengan pertumbuhan bobot harian dapat mencapai 0,83--1,5 kg (Santoso dan Andoko, 2012).

Sapi Brahman dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Sapi Brahman

Klasifikasi Taksonomi Sapi Brahman

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

<i>Kingdom</i>	: <i>Chordata</i> ;
<i>Sub-Kingdom</i>	: <i>Vertebrata</i> ;
<i>Class</i>	: <i>Mamalia</i> ;
<i>Sub-Class</i>	: <i>Eutheria</i> ;
<i>Ordo</i>	: <i>Artiodactyla</i> ;
<i>Sub-ordo</i>	: <i>Ruminantia</i> ;
<i>Infra-Ordo</i>	: <i>Pecora</i> ;
<i>Family</i>	: <i>Bovidae</i> ;
<i>Genus</i>	: <i>Bos</i> ;
<i>Group</i>	: <i>Taurinae</i> ;
<i>Species</i>	: <i>Bos indicus</i> .

2.2 Kualitas Semen

Kualitas semen beku yang didistribusikan oleh Balai Inseminasi Buatan (BIB) harus sesuai standar SNI 01- 4869.2-1988, yaitu semen beku yang memiliki konsentrasi sperma 25 juta/straw, dengan persentase sel sperma *post thawing motility* (PTM) minimal 40% dan persentase sperma abnormal maksimal 10% (Susilawati, 2011).

Penggunaan metode *thawing* yang tidak tepat akan menyebabkan kerusakan sel sperma sehingga menurunkan kualitas semen dari segi motilitas, persen hidup dan abnormalitas (Garin dkk. 2015).

Volume semen yang tertampung dapat langsung terbaca pada tabung penampung semen yang berskala. Semen sapi dan domba mempunyai volume rendah tetapi konsentrasi sperma tinggi sehingga memperlihatkan warna krem atau warna susu. Volume semen per ejakulat berbeda menurut bangsa, umur, ukuran badan, tingkatan makanan, frekuensi penampungan dan berbagai faktor lain. Pada umumnya, hewan muda yang berukuran kecil dalam satu spesies menghasilkan volume semen yang rendah. Ejakulasi yang sering menyebabkan penurunan volume dan apabila dua ejakulat diperoleh berturut-turut dalam waktu singkat maka umumnya ejakulat yang kedua mempunyai volume yang lebih rendah (Feradis, 2010). Volume semen sapi antara 5--8 ml, domba/kambing 0,8--1,2 ml, babi 150--200 ml, dan kuda 60--100 ml. Volume rendah tidak merugikan tetapi apabila disertai dengan konsentrasi yang rendah akan membatasi jumlah spermatozoa yang tersedia (Feradis, 2010).

Bau semen variabel pemeriksaan bau semen jarang dilakukan karena tidak berhubungan dengan kualitas spermatozoa. Umumnya bau semen dikategorikan sebagai bau khas (Herdis dan Rizal, 2010). Semen kambing normal berwarna seperti susu atau krem keputih-putihan dan keruh. Kira-kira 10% sapi menghasilkan semen yang normal dengan warna kekuning-kuningan yang disebabkan oleh *riboflavin* yang dibawa oleh satu gen autosom resesif dan tidak mempunyai pengaruh terhadap fertilitas (Feradis, 2010).

Pada umumnya sperma sangat aktif dan tahan hidup lama pada pH sekitar 7,0. Motilitas partial dapat dipertahankan pada pH antara 5--10. Walaupun sperma segera dimobiliser oleh kondisi-kondisi asam, pada beberapa spesies dapat dipulihkan kembali apabila pH dikembalikan ke netral dalam waktu satu jam. Sperma sapi dan domba yang menghasilkan asam laktat dalam jumlah yang tinggi

dan metabolisme fruktosa plasma seminalis, sehingga penting untuk memberikan unsur penyangga seperti garam fosfat, sitrat bikarbonat di dalam medium (Toelihere, 1985).

Konsistensi atau kekentalan semen segar dilihat dengan cara memiringkan tabung semen secara perlahan dan mengembalikan semen ke posisi 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).

2.3 Motilitas Sperma

Salah satu pengujian spermatozoa yang jelas dan mudah adalah motilitas. Motilitas diamati berdasarkan persentase spermatozoa yang mati dan kualitas pergerakannya, walaupun spermatozoa tidak memerlukan kemampuan dari tempat deposisi semen ketempat fertilitas namun motilitas diperlukan pada bagian tertentu misalnya pada saat melewati mukosa uterus (Hunter, 1992).

Motilitas diamati berdasarkan presentase spermatozoa yang mati dan kualitas pergerakannya, walaupun spermatozoa tidak memerlukan kemampuan bergerak dari tempat deposisi semen ketempat fertilisasi, namun motilitas diperlukan pada bagian tertentu misalnya pada saat melewati *mukosa uterus* (Hunter, 1995).

Daya gerak spermatozoa sangat penting karena diperlukan untuk bergerak maju dalam saluran kelamin betina yang selanjutnya membuahi ovum. Garner dan Hafez (2000) menyatakan bahwa syarat minimal motilitas spermatozoa *post thawing* agar dapat diinseminasikan adalah 40%.

Gerakan spermatozoa normal pada umumnya adalah pergerakan progresif atau gerakan aktif maju ke depan. Gerakan melingkar dan gerakan mundur merupakan tanda-tanda akibat dari *cold shock*. Gerakan berputar di tempat sering terlihat pada

semen yang sudah tua, apabila banyak spermatozoa yang telah berhenti bergerak maka dianggap mati (Feradis, 2010). Terdapat tiga tipe pergerakan spermatozoa yaitu pergerakan progresif (maju ke depan), pergerakan rotasi (gerakan berputar) dan *osilator* atau *konvulsif* tanpa pergerakan ke depan atau perpindahan posisi (Evans dan Maxwell, 1987).

2.4 Persentase Sperma Hidup

Umumnya spermatozoa sangat aktif tahan lama pada pH sekitar 7.0 (Toelihere, 1985). Daya tahan hidup spermatozoa dapat dipertahankan dengan menambah bahan pengencer (Melrouse, 1976). Menurut Seit (1954), faktor utama yang menentukan daya tahan hidup spermatozoa adalah suhu penyimpanan dan laju penurunan suhu.

Persentase sperma hidup dapat diketahui dengan cara pewarnaan menggunakan eosin yaitu dengan meneteskan larutan eosin pada sperma dan diratakan, kemudian di angin-anginkan atau difiksasi dengan spiritus dan selanjutnya diamati di bawah mikroskop. Sperma yang berwarna merah berarti mati, dan yang tidak berwarna berarti hidup (Mulyono, 1998).

Zat warna eosin tidak dapat masuk ke dalam sel spermatozoa hidup, dikarenakan membran plasma spermatozoa hidup masih utuh atau belum mengalami kerusakan (Hunter, 1995). Permeabilitas dinding sel menjadi lebih tinggi setelah mati sehingga sel spermatozoa yang mati akan menghisap lebih banyak warna, dan sel spermatozoa hidup menghisap warna yang sangat sedikit (Partodiharjo, 1992). Semen yang baik memiliki persentase viabilitas diatas 50% (Toelihere, 1993).

2.5 Abnormalitas Sperma

Semen yang masih layak diinseminasikan yaitu memiliki nilai abnormalitas spermatozoa <20% (Partodihardjo, 1992). Klasifikasi abnormalitas spermatozoa yaitu abnormalitas primer dan sekunder. Abnormalitas primer spermatozoa terjadi pada saat proses spermatogenesis, sedangkan abnormalitas sekunder terjadi

akibat kesalahan penanganan semen setelah meninggalkan testis seperti kocokan keras (Toelihere, 1985).

Abnormalitas primer meliputi kepala yang terlampau besar (*macrocephalic*), kepala terlampau kecil (*microcephalic*), kepala pendek melebar, pipih memanjang, kepala rangkap, ekor ganda, bagian tengah melipat, membengkok, membesar, ekor melingkar, putus atau terbelah. Abnormalitas sekunder meliputi ekor yang putus, kepala tanpa ekor, bagian tengah yang melipat (Toelihere, 1985).

Abnormalitas sekunder disebabkan karena gangguan sperma setelah meninggalkan tubulus seminiferi contohnya seperti pada saat pematangan, gangguan mekanis akibat penanganan dan *temperature shock* (Suyadi dan Susilawati, 1993).

Setiap spermatozoa yang abnormal tidak dapat membuahi ovum, tanpa memandang apakah abnormalitas tersebut terjadi di dalam tubulus seminiferi atau di dalam saluran kelamin jantan atau waktu ejakulasi (Partodiharjo, 1992). Persentase abnormalitas spermatozoa dihitung menggunakan preparat ulas yang diwarnai dengan eosin-negrosin (Aminasari, 2009).

2.6 Pengencer Susu Skim

Susu skim merupakan bahan pengencer yang banyak digunakan karena dapat melindungi spermatozoa dari kejut dingin dengan daya pelindung berupa lipoprotein dan lesitin yang bekerja pada selubung lipoprotein sel sperma, disamping itu susu skim juga mengandung glukosa, bermacam- macam protein vitamin yang larut dalam lemak yang menguntungkan bagi sel spermatozoa (Salisbury dan Van Demark, 1985).

Penggunaan air susu skim berfungsi sebagai bahan pelindung sperma dari pengaruh kejut dingin sekaligus sebagai bahan makanan bagi spermatozoa (Perry, 1960). Pengencer susu skim yang tidak dipanaskan terlebih dahulu menyebabkan spermatozoa mati dalam waktu 1--2 hari tetapi jika susu tersebut dipanaskan

terlebih dahulu selama beberapa menit sebelum dipakai akan menyebabkan spermatozoa hidup (Salisbury dan Van Demark, 1985). Dalam air susu mentah mengandung bahan yang bersifat racun dan enzim yang dapat mematikan spermatozoa (Perry, 1960).

Larutan susu skim 9 % yang dipanaskan dengan temperatur tinggi sebagai bahan pengencer yang diencerkan dengan *aquadestilata* akan memiliki fertilitas tinggi (Melrouse, 1979). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan (Hoesni, 2016) pemberian pengencer susu skim sampai taraf 15% memberikan hasil yang terbaik sehingga mampu menekan laju penurunan daya tahan hidup spermatozoa sapi Simmental yang disimpan selama 2 hari pada suhu 5°C.

Bahan yang telah lazim ditambahkan dalam pengencer untuk mencegah pengkristalan dan melindungi dari kejutan dingin dalam sperma sehingga mampu meningkatkan daya hidup sperma adalah gliserol. Gliserol mampu berdifusi ke dalam sel sperma sehingga dapat mencegah kerusakan sel sperma saat proses pembekuan semen. Gliserol yang ditambahkan dalam pengencer harus optimal. Apabila berlebihan gliserol dapat menyebabkan perubahan tekanan osmotik yang akan berakibat dehidrasi sperma, karena kekurangan cairan dalam sperma sehingga dapat meningkatkan kematian sel sperma akibat kerusakan organel-organel sel (Setiono dkk. 2015).

2.7 Vitamin C

Suryohudoyo (2000) mengatakan bahwa vitamin C atau asam askorbat termasuk dalam antioksidan yang mampu memutus rantai reaksi radikal bebas. Vitamin C mempunyai kemampuan menguatkan kestabilan jaringan pelindung membran plasma terhadap peroksida lipid, sehingga dapat mempertahankan kualitas dan fertilitas semen. Namun menurut Sumarsono (1998) spermatozoa sangat peka terhadap perubahan pH medium terutama perubahan ke pH rendah. Vitamin C memiliki sifat yang asam oleh karena itu penambahannya ke dalam pengencer harus memperhatikan perubahan pH yang akan terjadi. 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 didalam dan diluar sel sperma. (Yahaq, 2019).

Vitamin C dengan dosis 200 mg/100 ml pengencer mampu berperan melindungi membran plasma spermatozoa dari kerusakan membran plasma akibat peroksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas (Aurich dkk. 1997). Hasil penelitian Yahaq dkk. (2019), menyatakan bahwa penambahan vitamin C dengan 0,25 g/100 ml pengencer merupakan dosis yang optimal vitamin C untuk ditambahkan dalam pengencer susu skim karena menunjukkan peningkatan dibandingkan tanpa penambahan vitamin C. Penambahan vitamin C mampu meminimalkan kerusakan membran plasma sel sperma yang terjadi akibat reaksi peroksidasi. Penurunan motilitas semen terjadi pada penambahan vitamin C dosis 0,75 g/100 ml pengencer. Penurunan tersebut disebabkan oleh penambahan dosis vitamin C yang terlalu banyak sehingga dapat menimbulkan toksik dan mempengaruhi laju oksidasi.

2.8 Vitamin E

Salah satu antioksidan yang telah digunakan adalah vitamin E atau α tokoferol. 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).

Menurut Beconi dkk. (1993), secara *in vitro* vitamin E mampu melindungi membran sel melawan peroksidasi lipid dengan cara menangkap radikal bebas. Vitamin E merupakan salah satu antioksidan yang digunakan untuk menghambat reaksi peroksidasi lipid, yakni suatu zat yang dapat mengikat senyawa radikal bebas (Putra, 2019).

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). Ditambahkan dengan hasil penelitian Alawiyah dan Hartono (2006) 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 SKT dengan dosis terbesar 0,5 g/100ml maka kualitas semen cair yang disimpan selama 18 jam semakin baik dengan nilai motilitas sebesar $59,37 \pm 8,00$ %; dan spermatozoa hidup $89,46 \pm 1,12$ %. 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 spermatozoa hidup sebesar 86,57% (Hartono, 2008).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada 23 Januari sampai 03 Februari 2023 di Laboratorium Unit Pelayanan Teknis Balai Inseminasi Buatan Daerah (UPTBIBD) Kecamatan Terbanggi Besar, Kabupaten Lampung Tengah, Provinsi Lampung.

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, *timer*, *cool top*, *incubator*, kertas label, alat tulis, kandang kawin, mikroskop, layar monitor, *objek 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, *tissue*, pinset, *container*, *canister*, alat *printing straw* dan goblet.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan yaitu susu skim, *aquabides*, *buffer antibiotic*, *glycerol*, *glucose*, kuning telur, Vitamin C, Vitamin E, semen Sapi Brahman pejantan, vaselin, ternak pemancing, *penicillin*, *streptomycin*, *fructosa*, air panas, sabun, NaCl dan N₂ cair.

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan 4 perlakuan penambahan dosis vitamin C dan E dalam pengencer susu skim sebanyak 6 ulangan. Perlakuan yang diberikan yaitu:

- P0 : Tanpa Penambahan Vitamin C dan Vitamin E
- P1 : Penambahan Vitamin C sebanyak 0,25 g/100 ml pengencer
- P2 : Penambahan Vitamin E sebanyak 0,41 g/100 ml pengencer
- P3 : Penambahan Kombinasi Vitamin C sebanyak 0,25 g/100 ml dan Vitamin E sebanyak 0,41 g/100 ml pengencer

3.4 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium UPTD-BIBD Lampung yang meliputi proses pembuatan pengencer susu skim, penampungan semen segar, pemeriksaan kualitas semen segar, pengenceran semen segar, *printing straw*, *filing* dan *sealing*, ekuilibrasi, *Prefreezing*, *test before freezing*, *freezing*, *test after thawing* dan pemeriksaan berupa persentase motilitas spermatozoa, persentase hidup spermatozoa dan abnormalitas spermatozoa.

3.4.1 Pembuatan pengencer susu skim

1. Membuat *buffer antibiotik*
 - a. menyiapkan susu skim 20 gr dan aquabides 192 ml;
 - b. memanaskan buffer sampai suhu 90^oC lalu didiamkan selama 12 menit;
 - c. menyaring *buffer* dengan kapas kemudian disimpan dalam *refrigator* hingga dingin;
 - d. menambahkan antibiotik. Antibiotik yang digunakan yaitu *Penicilin* 3 juta IU (0,6 ml) dan *Streptomycin* 2 ml, lalu diaduk hingga homogen.
2. Membuat bahan pengencer bagian A
 - a. *Buffer antibiotic* 95 ml;
 - b. Kuning telur 5 ml.

3. Membuat bahan pengencer bagian B
 - a. *Buffer antibiotic* 77 ml;
 - b. *Glyserol* 16 ml;
 - c. Kuning telur 50 ml;
 - d. *Fruktosa* 2 gr; masing-masing pengencer dicampur hingga homogen (BIB Lembang, 2009).

3.4.2 Penampungan semen

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 sepatu *safety* atau sepatu *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 kedalam 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, semen yang telah ditampung ke bagian laboratorian untuk dilakukan pemeriksaan (BIB Poncowati, 2012).

3.4.3 Evaluasi semen

Evaluasi semen dilakukan pada saat segar, ekuilibrasi dan *post thawing*. Evaluasi semen dilakukan untuk mengetahui semen yang ditampung layak atau tidak untuk dilakukan proses selanjutnya. Menurut Susilawati (2011), evaluasi semen meliputi pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis.

3.4.3.1 Pemeriksaan makroskopis

Melihat pada tabung dan mencatat:

1. Volume (ml);
2. Warna (putih susu, krem, kuning)
3. Kekentalan (encer, sedang, kental);
4. Bau (khas);
5. pH (hasil dari pengukuran pH meter).

3.4.3.2 Pemeriksaan mikroskopis

1. Menyalakan mikroskop, layar monitor dan slide warmer.
2. Menyiapkan NaCl fisiologis 0,9% dalam *beaker glass, stick glass, pipet, objek glass, cover glass* dan *tissue*.
3. Melakukan pemeriksaan gerakan massa sperma
 - a. meneteskan semen menggunakan stik glass di atas objek 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 20 x 10 dan 10 x 10
6. Melakukan penilaian dengan cara membandingkan spermatozoa yang bergerak progresif dengan gerakan lain yang tidak progresif dan dinyatakan dalam persentase antara 0--100% (Evans dan Maxwell, 1987).

3.4.4 Pengenceran semen

1. Semen segar dibagi menjadi 4 bagian.
2. Mencampurkan semen yang akan di proses dengan pengencer part A yang telah disimpan dalam *incubator* dengan suhu 37°C.
3. Menyimpan dalam *cool top* dengan suhu 4°C selama 35 menit.
4. Mencampurkan part A dengan part B dilakukan didalam *cool top*.
5. Menghomogenkan kembali kemudian semen didiamkan selama 2,5 jam didalam *cool top*.
6. Mengemas semen ke dalam *straw* (BIB Lembang, 2009).

3.4.5 Printing straw

Printing straw adalah proses pelabelan kemasan *straw* yang berisikan informasi kode *bull*, tahun di produksi, tempat produksi dan nama pejantan. Proses printing *straw* dapat dilakukan dengan cara sebagai berikut

1. menghubungkan PC, monitor, dan mesin printing *straw* ke sumber listrik;
2. menyalakan mesin printing *straw* dengan menekan *switch Onn/Off*;
3. menyalakan PC dan monitor;

4. menunggu hingga mesin *printing* siap digunakan, ditandai dengan munculnya tulisan "*Fingerprint 8.82.0*" pada layar mesin *printing*;
5. menekan 2x pada icon *shortcut Basycoder* pada *desktop* untuk membuka *Easycoder 2.0 software*;
6. mengubah kode *batch* dapat dilakukan dengan cara meng *klik* menu *Set Print Format* kemudian *Edit Layout*. Pada *Name Of The Component*, *klik* komponen *Code Batch*;
7. mengetik ulang kode *batch* sesuai dengan kode yang diinginkan. Pastikan dalam *mode static text* kemudian *Klik update component* dan *Save layout* serta *klik Save current layout*. Pada *list entry* pejantan, *klik 2x* pada nama pejantan yang akan dilabelkan pada *straw*;
8. memasukkan *straw* pada rak *straw*;
9. menyesuaikan warna *straw* dengan rumpun pejantan;
10. memasukkan jumlah *straw* yang akan dicetak, Sesuaikan spasi pada *Line 1* dan *Line 2*;
11. menekan "*Start Print*", lalu tunggu sampai terdengar bunyi "*TIIT*";
12. menekan *F1* pada mesin *printing*. Bila jumlah *straw* sudah lengkap, tekan *F3* pada mesin *printing*;
13. meng-*klik Complete Print Job* pada layar monitor untuk mengakhiri proses *printing*;
14. menutup aplikasi dengan cara *klik* pada icon *X (close)*. Setelahnya akan muncul jendela data *backup succesfully performed*, *klik OK*;
15. mematikan PC. dan monitor;
16. mematikan mesin *printing* dengan cara menekan *switch ON/OFF*;
17. melepaskan kabel pada sumber listrik (BIB Poncowati, 2012).

3.4.6 Filing dan sealing

Proses filling dan sealing merupakan proses memasukkan semen yang sudah diencerkan ke dalam *straw* dan lolos evaluasi setelah ekuilibrase, selain itu pada proses ini *straw* akan diberi label dan *straw* yang telah terisi semen cair akan disegel dengan sumbat lab. Satu dosis IB berisi 0,25 ml semen dengan

konsentrasi sperma 25×10^6 sel/dosis. Proses *filling dan sealing* dapat dilakukan dengan cara sebagai berikut

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. memosisikan 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, 2012).

3.4.7 Ekuilibrase

Ekuilibrase merupakan proses penurunan suhu semen beku menjadi 4--6°C yang bertujuan agar semen beku dapat melakukan penyesuaian suhu sebelum dilakukan proses *freezing* sehingga dapat meminimalisir spermatozoa yang rusak akibat *coldshock*. Sesuai dengan pendapat Toelihere (1993), waktu ekuilibrase adalah waktu yang diperlukan spermatozoa sebelum pembekuan untuk menyesuaikan diri dengan pengencer supaya sewaktu pembekuan kematian sperma yang berlebih dapat dicegah. Proses ekuilibrase dapat dilakukan dengan cara sebagai berikut

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, 2012).

3.4.8 Test pasca ekuilibrase

1. Menyiapkan *object glass* kemudian meneteskan semen di atas *object glass* dan tutup dengan *cover glass*.
2. Mengamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 10 x 20.
3. Melakukan penilaian gerakan massa spermatozoa dengan syarat minimal ++ (BIB Poncowati, 2012).

3.4.9 Prefreezing

1. Mengisi *box pre freezing* dengan N₂ cair sampai batas 10 cm.
2. Meletakkan rak *straw* diatas dudukan dengan jarak *straw* dengan permukaan N₂ cair sekitar 6 cm.
3. Menutup box untuk mengurangi penguapan N₂ cair didalamnya dan tunggu selama 10 menit (BIB Poncowati, 2012).

3.4.10 Freezing

1. Memasukkan *straw* kedalam goblet berisi N₂ cair yang diletakkan di *box*.
2. Memindahkan goblet dengan cepat pada *canister*.
3. Masukkan *straw* ke dalam kontainer sampai terendam N₂ cair dengan temperatur - 196°C (BIB Poncowati, 2012).

3.4.11 Post Thawing

1. Melakukan pemeriksaan semen beku dilakukan dengan cara evaluasi setelah thawing sebagai *quality control* terakhir. Pemeriksaan ini dilakukan keesokkan hari.
2. Menyiapkan air hangat pada water incubator atau dalam termos air dengan suhu 37°C.

3. Mengambil semen beku lalu *thawing* dalam air hangat dengan suhu 37°C selama 30 detik.
4. Mengeringkan dengan tisu, lalu potong kedua ujung *straw*.
5. Memasukkan larutan semen ke dalam *mikrotube* dan dihangatkan pada suhu sekitar 37 °C.
6. Meneteskan diatas *object glass* kemudian tutup dengan *cover glass*.
7. Melihat dengan mikroskop pada perbesaran 10x10 pada beberapa lapang pandang.
8. Melakukan penilaian terhadap pergerakan sperma. Motilitas semen sapi yang baik berkisar antara 40--75% (Garner dan Hafez, 2000).

3.5 Peubah yang Diamati

3.5.1 Motilitas spermatozoa

Melakukan penilaian terhadap motilitas sperma dan gerakan individu spermatozoa dengan prosedur sebagai berikut

1. meneteskan sebanyak satu tetes semen kemudian diletakkan di atas gelas objek kemudian ditutup dengan *cover glass*;
2. mengamati motilitas spermatozoa menggunakan mikroskop pembesaran 10 x 40 dan diamati secara subjektif;
3. melakukan penilaian dengan cara membandingkan spermatozoa yang bergerak progresif dengan gerakan lain yang tidak progresif dan dinyatakan dalam persentase antara 0--100% (Evans dan Maxwell, 1987).

3.5.2 Presentase spermatozoa hidup

1. Meneteskan satu tetes *eosin* 2% pada ujung gelas objek.
2. Meneteskan semen beku yang telah dicampur dengan bahan pengencer susu skim 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 10 x 40 spermatozoa yang hidup tidak berwarna , sedangkan spermatozoa yang mati akan berwarna merah atau merah muda. Jumlah spermatozoa yang dihitung minimal 210 sel dan dihitung secara zig-zag sampai 10 lapang pandang.
6. Menurut Mumu (2009), menghitung presentase spermatozoa hidup dengan rumus:
 Persentase spermatozoa hidup = $\frac{\text{jumlah sperma hidup}}{\text{jumlah sperma diamati}} \times 100\%$

3.5.3 Abnormalitas spermatozoa

1. Meneteskan satu tetes eosin 2% pada ujung gelas objek.
2. Meneteskan semen beku yang telah dicampur dengan bahan pengencer susu skim 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 10 x 40. Spermatozoa yang abnormal ditandai dengan bentuk sperma tanpa kepala, kepala tanpa ekor, ekor melingkar, kepala ganda.
6. Jumlah spermatozoa yang dihitung minimal 210 sel dan dihitung secara zig-zag sampai 10 lapang pandang.
7. Menurut Ridwan (2002), menghitung sperma abnormal dapat dilakukan dengan menggunakan rumus:

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

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dari masing-masing perlakuan dianalisis statistika menggunakan analisis ragam (ANARA) dengan taraf 5%.

V. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa penambahan vitamin C dan E pada bahan pengencer susu skim tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap motilitas, persentase hidup, dan abnormalitas spermatozoa.

DAFTAR PUSTAKA

- Agarwal, A., S. Prabakaran, dan T. Said. 2005. Prevention of oxidative stress injury to sperm. *Journal Adrol*, 26(6):654--660.
- Alawiyah, D. dan M. Hartono. 2006. Pengaruh penambahan vitamin e dalam bahan pengencer sitrat kuning telur terhadap kualitas semen beku kambing boer. *J. Indonesia Tropis Animal Agric*, 31(1):8--14.
- Aminasari, P.D. 2009. Pengaruh Umur terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Limousin. Skripsi. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya. Malang.
- Andryansyah, R., S. Teguh, H. Fachroerrozi, dan R. Bayu. 2020. Kualitas semen beku kambing peranakan etawah pada permukaan nitrogen cair dengan jarak yang berbeda. *Jurnal Nukleus Perternakan*, 7(1) :1--5.
- Aurich, J.E., U. Schoneher, H. Hoppe and C. Aurich. 1997. Effect of antioxidants on motility and membrane integrity of chilled-stored stallion semen. *Therio- genology*, 48(2):185--192.
- Badan Standarisasi Nasional. 2017. SNI 4869-1-2017. Semen Beku Bagian Satu. Jakarta. <https://www.google.co.id/search> syarat motilitas sperma yang dapat diinseminasikan. Diakses pada 5 februari 2023.
- Beconi, M.T., C.R. Francia, N.G. Mora, and M.A. Affranchino, 1993. Effect of natural antioxidants on frozen bovine semen preservation. *Theriogenology*, 40(4):841--851.
- BIB Lembang. 2009. Petunjuk Teknis. Departemen Pertanian . Direktorat Jendral Peternakan. Balai Inseminasi Buatan Lembang.
- BIB Poncowati. 2012. Standar Operating Procedur (SOP) produksi mani beku . Dinas Peternakan dan Kesehatan Hewan Provinsi Lampung. UPTD Balai Inseminasi Buatan. Lampung.
- Blakely, J. dan H. Bade. 1992. Pengantar Ilmu Peternakan (Diterjemahkan B. Hardjosubroto) Gramedia. Jakarta.

- Butar, E. 2009. Efektifitas Frekuensi Exercise Terhadap Peningkatan Kualitas Semen Sapi Simmental. Skripsi. Fakultas Pertanian. Universitas Sumatera Utara.
- Connors, K.A.G., C. Amidon, and J.J. Stella. 1992. Stabilitas Kimiawi Sediaan Farmasi Terjemahan Didik Gunawan Jilid 1 Edisi 2 IKIP. Semarang.
- Direktorat Jendral Peternakan. 2007. Petunjuk Teknis Produksi dan Distribusi Semen Beku. Jakarta
- Evans, G. and W.M.C. Maxwell. 1987. Salamons Artificial Insemination of Sheep and Goats. Butterworths. London.
- Feradis. 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.
- Garin, J. H. 2015. Pengaruh Berbagai Metode Thawing Terhadap Kualitas Semen Beku Kambing Peranakan Etawa (PE). Tesis. Universitas Brawijaya. Malang.
- Garner, D.L. and E.S.E. Hafez. 2000. Spermatozoa and Seminal Plasma. In Reproduction in Farm Animal. 7th edition. Lippincot and Williams. Baltimore, Marryland. USA.
- Goldman, E.E., J.E. Ellington, F.B. Farrel, and R.H. Foote. 1991. Use of fresh and frozen thawed bull sperm in vitro. *Theriogenology*, 35(2):204--210.
- Hafez, E.S.E. 2000. Semen Evolution in Reproduction in Farm Animal. 7th edition. Lea and Febiger. Philadelphia.
- Hartono, M. 2008. Optimalisasi penambahan vitamin e dalam pengencer sitrat kuning telur untuk mempertahankan kualitas semen kambing boer. *Jurnal Indonesian Trop. Anim. Agric*, 33(1):1--9.
- Mumu, M.I. 2009. Viabilitas Semen Sapi Simmental yang Dibekukan Menggunakan Krioprotektal *Gliserol*. Skripsi. Universitas Tadulako. Sulawesi Tengah.
- Nursyam. 2007. Perkembangan Iptek Bidang Reproduksi Ternak Untuk Meningkatkan Produktivitas Ternak. <http://www.unlam.ac.id./journal/pdf> file. Diakses pada 20 Februari 2023.
- Park, J.E. and J.K. Graham. 1992. Effects of cryopreservation procedur on sperm membranes. *Theriogenology*, 38(1): 209--222

- Partodihardjo, S. 1992. Ilmu Reproduksi Hewan. Cetakan ke-3. Penerbit Mutiara Sumber Widia. Jakarta.
- Perry, E.J. 1960. The Artificial Insemination of Farm Animal. Rutgers University Press. Nem Browick. New Jersey.
- Putra, I.M.H., W. Bebas, dan M.K. Budiayasa. 2019. Pengaruh penambahan berbagai konsentrasi vitamin e pada pengencer fosfat kuning telur terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa puyuh. *Jurnal Veteriner*, 11(1):58--64.
- Ridwan. 2002. Fertil Life dan Periode Fertil Spermatozoa Ayam Buras Pasca Inseminasi Buatan. Tesis. Program Pascasarjana Universitas Padjadjaran. Bandung.
- Rizal, M. dan Herdis. 2010. Peranan antioksidan dalam meningkatkan kualitas semen beku. *Jurnal Wartazoa*, 20(3):139--145.
- Salisbury, G.W. and N.L. Van Demark 1985. Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan Pada Sapi. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Santoso, K., S. Warsito, dan A. Andoko. 2012. Bisnis Penggemukan Sapi. Agromedia Pustaka. 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.
- Seit. B. 1954. Pembuahan Buatan. Balai Penerbit Indonesia. Jakarta.
- Setiono, N., S. Suharyati dan P.E. Santosa 2015. Kualitas semen beku sapi Brahman dengan dosis krioprotektan gliserol yang berbeda dalam bahan pengencer tris sitrat kuning telur. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*, 3(2): 61--69.
- Situmorang, P. 2002. The effects of inclusion of exogeneous phospholipid in trisdiluent containing a different level of egg yolk on the viability of bull spermatozoa. *Reasearch institute for animal production*, 7(3):131--187.
- Solihati, N., S.D. Rasad, M. Rizal, dan M. Fitriati. 2008. Pengencer susu, tris dan sitrat kuning telur pada penyimpanan 4--5 °C. *Animal Production*, 10(1):22--29.
- Sumarsono, T. 1998. Peningkatan Kualitas Spermatozoa Kerbau Lupur dengan Penambahan Asam Askorbat dalam Pengencer Semen Beku. IPB. Bogor.
- Suryohudoyo, P. 2000. Oksidan, Antioksidan, dan Radikal Bebas. CV Sagung Seto. Jakarta.

- Susilawati, T. 2011. Spermatology. Universitas Brawijaya. Press. Malang
- Susilawati, T., Suyadi, Nuryadi, N. Isnaini, dan S. Wahyuningsih. 1993. Kualitas Semen Sapi Fries Holland dan Sapi Bali Pada Berbagai Umur dan Berat Badan. Laporan Penelitian. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya.
- Susilowati, S., Hardijanto, T.W. Suprayogi, T. Sardjito, dan T. Hernawati. 2010. Penuntun Praktikum Inseminasi Buatan. Universitas Airlangga Press. Surabaya.
- Toelihere, M.R. 1993. Inseminasi Buatan pada Ternak. Angkasa Bandung.
- Walson, P.F. and C.A. Martin. 1975. The influences of same fractions of egg yolk on the survival of ram spermatozoa at 5°C. *Australian Journal of Biological Sciene*, 28(2):145--152.
- Werdhany, I.W., M.R. Toelihere, I. Supriatna, dan I.K. Utama. 2000. Efek pemberian berbagai konsentrasi a- tokoferol sebagai antioksidan dalam pengencer tris sitrat terhadap motilitas sperma kambing Peranakan Etawah. Prosiding. Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner. Puslitbang Peternakan. Bogor.
- Yahaq, M. A., Y.S. Ondho, dan Sutyono. 2019. Pengaruh Vitamin C dalam pengencer semen sapi limousin yang dibekukan. *Jurnal Sains Peternakan Indonesia*, 14(4):380--386.