

**KUALITAS SEMEN SAPI SIMMENTAL MENGGUNAKAN PENGENCER
TRIS-KUNING TELUR YANG DISUBSTITUSI FRUKTOSA
DENGAN AIR TEBU (*Saccharum Officinarum*)**

SKRIPSI

**OLEH
MUHAMMAD ERI SALDA
E10020186**



**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS JAMBI
2024**

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI.....	iii
DAFTAR TABEL.....	v
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan	3
1.3 Manfaat	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Karakteristik Sapi Simmental.....	4
2.2 Evaluasi Semen	5
2.2.1 Motilitas Spermatozoa.....	5
2.2.2 Viabilitas Spermatozoa.....	6
2.2.3 Abnormalitas Spermatozoa	6
2.3 Air Tebu	7
2.4 Tris Kuning Telur.....	8
2.5 Pengencer Semen	9
BAB III MATERI DAN METODE.....	11
3.1 Tempat Dan Waktu	11
3.2 Materi Dan Peralatan.....	11
3.3 Metode	11
3.3.1 Penampungan Semen.....	11
3.3.2 Pembuatan Bahan Pengencer Tris-Kuning Telur Air Tebu	12
3.3.3 Pengencer Semen.....	12
3.4 Rancangan Penelitian	13
3.5 Peubah Yang Diamati	13
3.5.2 Motilitas Spermatozoa.....	13
3.5.2 Viabilitas Spermatozoa.....	13
3.5.3 Abnormalitas Spermatozoa	14
3.6 Analisis Data	14
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	15
4.1 Karakteristik Semen Segar Sapi Simmental	15
4.2 Pengaruh Perlakuan Terhadap Motilitas Spermatozoa	18
4.3 Pengaruh Perlakuan Terhadap Viabilitas Spermatozoa	20
4.4 Pengaruh Perlakuan Terhadap Abnormalitas Spermatozoa	22
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	24
5.1 Kesimpulan	24
5.2 Saran.....	24

DAFTAR PUSTAKA	25
LAMPIRAN.....	31

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi Bahan Pengencer Tris-Kuning Telur Air Tebu	12
2. Karakteristik Semen Segar Sapi Simmental	15
3. Pengaruh Perlakuan Terhadap Motilitas Spermatozoa	18
4. Pengaruh Perlakuan Terhadap Viabilitas Spermatozoa	20
5. Pengaruh Perlakuan Terhadap Abnormalitas Spermatozoa.....	22

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Peningkatan populasi ternak sapi dapat diupayakan melalui pemanfaatan bioteknologi reproduksi. Aplikasi bioteknologi reproduksi yang dapat diterapkan, untuk tujuan tersebut diantaranya adalah Inseminasi Buatan (IB) (Sitepu dan Putra, 2017). Inseminasi Buatan (IB) adalah salah satu cara di mana spermatozoa yang telah diencerkan terlebih dahulu dimasukkan ke dalam saluran reproduksi betina. Keberhasilan inseminasi buatan sangat bergantung pada mutu semen yang digunakan. Kualitas semen yang baik dapat diperoleh dari pejantan yang memiliki kondisi kesehatan optimal (Tanii dkk, 2022). Salah satu cara untuk menjaga mutu semen agar tetap optimal dan dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama adalah dengan melakukan pengenceran semen menggunakan bahan-bahan tambahan yang diperlukan untuk mendukung keberlangsungan hidup sperma selama penyimpanan.

Menurut Kameni dkk. (2021) untuk menjaga kualitas spermatozoa, pengencer harus memiliki kandungan sumber energi dan nutrisi yang cukup, memiliki penyangga untuk menyetabilkan pH, bahan krioprotektan untuk mencegah kerusakan membran spermatozoa, zat anti mikrobial, bersifat antioksidan, tidak toksik, dan isotonis. Inonie dkk. (2016) menambahkan syarat penting pengencer yang baik yaitu murah, sederhana, praktis, memiliki daya preservasi yang tinggi dan mengandung unsur sifat fisik maupun kimia yang sama dengan semen. Jika semen diencerkan, perlu ditambahkan bahan berupa glukosa dan fruktosa dalam pengencer yang bertujuan sebagai sumber energi bagi spermatozoa. Glukosa dan fruktosa merupakan salah satu bahan sintesis yang harganya relatif mahal. Untuk itu diperlukan bahan alternatif yang lebih murah, mudah didapat, memenuhi syarat sebagai pengencer dan tidak mengandung zat toksik bagi spermatozoa (Duma dkk. 2021). Salah satu bahan organik alternatif yang mudah didapat serta terjangkau adalah air tebu.

Air tebu mengandung pati yang tersusun atas sukrosa yang terdiri dari glukosa dan fruktosa (Ninchan dan Noidee, 2021). Erwinda dkk. (2014)

menyebutkan ekstrak air tebu murni mengandung 18,08% sukrosa dan 0,54% gula invert, dimana kandungan komponen tersebut lebih tinggi daripada komponen lainnya didalam air tebu. Menurut Amaral dkk. (2013), sukrosa dapat berfungsi sebagai substrat sumber energi yang sangat penting untuk meningkatkan konsentrasi ATP dan motilitas spermatozoa. Berdasarkan pendapat Riyadhi (2020), pengencer air tebu yang dikombinasikan dengan kuning telur dapat mempertahankan motilitas spermatozoa hingga dua hari. Anwar dkk. (2014), menambahkan bahwa ekstrak air tebu yang ditambahkan ke dalam kuning telur dapat digunakan sebagai pengencer pada semen sapi dan mampu mempertahankan kualitas spermatozoa hingga hari ke-6 dengan motilitas di atas 40%.

Kualitas semen dapat dilakukan dengan 2 pemeriksaan yaitu pemeriksaan secara makroskopis dan mikroskopis (Susilawati, 2011). Uji Makroskopis meliputi empat parameter yaitu volume, warna, kekentalan dan pH. Pada umumnya volume semen bervariasi berdasarkan bangsa ternak yaitu sekitar 1-15 ml (Garner dan Hafez, 2000). Semen sapi dapat berwarna putih susu atau kekuning-kuningan yang disebabkan oleh kandungan riboflavin dalam semen. Warna semen bisa saja tidak tergolong warna di atas yang menandakan adanya ketidaknormalan pada semen tersebut. emen sapi memiliki pH kisaran 6,2 sampai dengan 6,8 (Ismaya, 2014). Volume tidak berkaitan langsung dengan kualitas spermatozoa, namun evaluasi volume semen sangat penting dalam mengetahui konsentrasi spermatozoa per ejakulasi (Moradpour, 2019).

Uji mikroskopis terdiri dari uji motilitas, konsentrasi, viabilitas (persentase hidup) dan uji morfologi (abnormalitas spermatozoa) (Susilawati, 2011). Motilitas dan konsentrasi merupakan parameter yang paling penting dalam penilaian kualitas semen (Centola, 2018). Motilitas merupakan parameter umum dalam menandakan kemampuan fungsional dari sel spermatozoa yang berperan penting dalam keberhasilan fertilisasi (Centola, 2018). Motilitas berkorelasi positif dengan morfologi dan kekuatan membran sel (Moradpour, 2019). Konsentrasi spermatozoa adalah banyaknya spermatozoa per unit dalam satuan volume atau per satu milliliter semen (Ismaya, 2014). Menurut Garner dan Hafez (2000) konsentrasi sapi pejantan berkisar 800 sampai dengan 2000 juta sel spermatozoa/ml. Penilaian abnormalitas sperma penting bagi analisis semen

karena sangat mempengaruhi kualitas semen. Abnormalitas spermatozoa dapat diklasifikasikan menjadi tiga bagian yaitu abnormalitas pada kepala, bagian tengah dan ekor. Abnormalitas pada kepala seperti terlalu besar atau kecil, runcing atau tumpul, kepala dua, kerusakan akrosomal dan amorf. (Centola, 2018).

Beberapa peneliti telah melaporkan penggunaan air tebu sebagai pengencer semen pada sapi Bali (Bardan dkk. 2009., Anwar dkk. 2014., Tanii dkk. 2022). Spermatozoa epididimis sapi peranakan (Riyadhi dkk. 2020), dan semen ayam hutan merah (Arsyad dkk. 2021). Hasil beberapa penelitian tersebut diperoleh bahwa air tebu dapat digunakan sebagai bahan pengencer alternatif dalam proses penyimpanan semen. Berdasarkan hal tersebut penelitian tentang “Kualitas semen sapi simmental menggunakan pengencer tris-kuning telur yang disubsitisi fruktosa dengan air tebu (*Saccharum Officinarum*)”.

1.2 Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengencer tris-kuning telur yang disubsitisi fruktosa dengan air tebu terhadap motilitas, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa sapi Simmental pada penyimpanan suhu 5°C.

1.3 Manfaat

Penelitian ini diharapkan akan menjadi informasi bagi para mahasiswa, dosen serta unit pelaksanaan teknis IB tentang pemanfaatan air tebu sebagai pengganti fruktosa dalam pengencer tris-kuning telur.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Karakteristik Sapi Simmental

Sapi Simmental berasal dari Switzerland dan memiliki ciri-ciri yang mencakup tubuh yang besar, pertumbuhan otot yang baik, tingkat penimbunan lemak di bawah kulit yang rendah, dan bulu biasanya berwarna krem agak cokelat atau sedikit merah. Bagian muka, keempat kaki, dan ekornya berwarna putih. Mereka memiliki tanduk yang kecil, dengan sapi betina mencapai berat sekitar 800 kg dan yang jantan mencapai berat sekitar 1.150 kg (Sugeng, 2003). Sapi Simmental terkenal karena kemampuannya dalam menyusui anaknya dengan baik, pertumbuhannya yang cepat, dan tubuhnya yang panjang serta padat. Mereka juga dikenal memiliki berat yang cukup baik, baik saat lahir, saat disapih, maupun saat mencapai dewasa (Blakely dan Bade, 1998).

Sapi Simmental memiliki berbagai keunggulan dan kelebihan, termasuk sebagai jenis sapi yang menghasilkan sperma berkualitas tinggi yang dapat digunakan dalam pembiakan sapi potong berkualitas unggul. Sapi Simmental juga memiliki kemampuan mencapai bobot badan dewasa hingga 1.400 kg, dengan penambahan bobot harian mencapai sekitar 2,1 kg per hari. Selain itu, persentase karkas daging yang dihasilkan oleh sapi Simmental cukup tinggi, dengan tingkat lemak yang relatif rendah. Jenis sapi ini bisa digunakan baik sebagai sapi perah maupun sapi potong (Yendraliza, 2008). Sapi Simmental diperkenalkan di Indonesia dengan tujuan untuk meningkatkan kualitas genetik sapi lokal, khususnya sapi Peranakan Ongole (PO), melalui proses perkawinan silang atau crossbreeding (Marlia, 2011).

Kebutuhan produksi daging sapi di tingkat nasional, penting untuk memiliki sapi-sapi dengan kualitas tinggi. Salah satu jenis ternak unggul yang menghasilkan daging berkualitas adalah sapi Simmental. Sapi Simmental memiliki karakteristik yang unik, termasuk pertumbuhan tubuh yang cepat, memiliki karkas yang besar, menghasilkan daging berkualitas tinggi, dan memiliki potensi untuk menghasilkan baik susu maupun daging (Yasin, 2022).

2.2 Evaluasi Semen

Sapi Simmental memiliki kualitas produksi yang sangat baik, dan keunggulannya tidak hanya terbatas pada produksi dagingnya saja. Selain menghasilkan daging berkualitas tinggi, sapi ini juga memiliki kualitas semen yang sangat baik dibandingkan dengan jenis sapi potong lainnya, lebih lanjut evaluasi atau pemeriksaan semen merupakan suatu tindakan yang perlu dilakukan untuk melihat kualitas dan kuantitas semen, dimana evaluasi semen dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis, pemeriksaan makroskopis yaitu pemeriksaan semen secara garis besar tanpa memerlukan alat bantu, sedangkan pemeriksaan secara mikroskopis bertujuan untuk melihat kondisi semen lebih dalam lagi serta memerlukan alat bantu yang cukup, oleh karena itu pemeriksaan semen secara makroskopis meliputi volume, warna, konsistensi, dan pH. Sedangkan pemeriksaan semen secara mikroskopis meliputi motilitas, presentase hidup-mati, konsentrasi dan abnormalitas (Susilawati, 2017).

Agar perkawinan atau inseminasi buatan berhasil, penting untuk memproduksi semen dalam jumlah dan kualitas yang lebih baik. Menurut Yendraliza (2008) menyatakan bahwa kualitas dan kuantitas semen dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti pola makan, komposisi makanan, kondisi suhu dan musim, frekuensi ejakulasi, tingkat libido, dan faktor-faktor fisik lainnya. Standar minimal kualitas semen yang dapat digunakan untuk inseminasi buatan adalah 50% (Toelihere, 1993, dalam Arifiantini, 2010). Semen sapi memiliki variasi warna yang berbeda, dimana warna semen ini dapat menjadi indikasi mengenai kualitas dari pejantan yang menghasilkannya, yaitu ditemukan bahwa semen segar yang memiliki jumlah sperma yang banyak cenderung menghasilkan semen yang lebih kental dan berwarna lebih pekat (Souhoka, 2009).

2.2.1 Motilitas Spermatozoa

Motilitas merupakan kemampuan pergerakan spermatozoa yang digunakan sebagai parameter untuk mengevaluasi kualitas spermatozoa, dimana kemampuan pergerakan yang progresif ini memiliki peran yang sangat penting dalam keberhasilan fertilisasi pada sapi yang subur, dimana motilitas spermatozoa biasanya berkisar antara 50-80% dan mereka bergerak dengan pola yang

progresif, namun saat spermatozoa disimpan dalam suhu rendah dalam keadaan beku, ini dapat menyebabkan penurunan motilitas, hal ini sesuai dengan pendapat Susilawati (2005), kualitas spermatozoa juga bisa menurun akibat kerusakan pada struktur membran selama proses pembekuan, yang pada gilirannya mengganggu metabolisme spermatozoa. Spermatozoa umumnya cenderung untuk bergerak bersama-sama dalam satu arah, sehingga membentuk gelombang-gelombang yang bisa jadi tebal atau tipis, dengan kecepatan gerakan yang bervariasi (Ihsan, 1992). Menurut Sarastina dkk. (2006) menyatakan kemungkinan rendahnya motilitas semen ini mungkin disebabkan oleh kondisi yang kurang optimal bagi sapi serta keterbatasan daya adaptasi terhadap iklim dan cuaca di Indonesia, serta sapi lokal cenderung memiliki tingkat daya adaptasi yang lebih baik jika dibandingkan dengan sapi impor.

2.2.2 Viabilitas Spermatozoa

Menurut Susilawati (2005), Persentase viabilitas adalah angka yang mencerminkan perbandingan antara jumlah spermatozoa yang masih hidup dengan sperma yang sudah mati, sehingga memungkinkan untuk menilai kualitas spermatozoa, dimana viabilitas merujuk pada kemampuan spermatozoa untuk tetap hidup agar dapat berubah selama proses penyimpanan, di mana kemungkinan penurunan terjadi karena jumlah spermatozoa yang rusak dan mati meningkat, oleh karena itu, penyimpanan yang baik seperti penyimpanan spermatozoa pada suhu rendah sangat diperlukan.

Keuntungan utama dari penyimpanan sperma pada suhu rendah adalah mencegah kerusakan yang terkait dengan pembekuan dan memastikan tingkat viabilitas semen tetap tinggi (Crespilho dkk. 2014). Semakin tinggi tingkat kehidupan spermatozoa atau viabilitasnya, maka semakin besar peluang untuk terjadi fertilisasi selama kopulasi, baik itu alami maupun dalam metode reproduksi buatan. Viabilitas spermatozoa dalam semen yang diencerkan atau semen yang dibekukan setidaknya harus mencapai 60% hingga 75% spermatozoa yang masih hidup (Garner dan Hafez, 2000).

2.2.3 Abnormalitas Spermatozoa

Abnormalitas spermatozoa adalah metode penilaian kualitas sperma yang digunakan untuk mengukur jumlah spermatozoa yang memiliki kelainan, maka melakukan penilaian abnormalitas spermatozoa digunakan metode pembuatan preparat ulas yang melibatkan pencampuran semen dengan larutan eosin 1% dan larutan nigrosin 10%, masing-masing dengan satu tetes di atas objek glass, serta preparat ulas kemudian diamati dengan menggunakan mikroskop pembesaran 400 kali, selanjutnya, dilakukan penghitungan jumlah spermatozoa yang memiliki kelainan dari 200 sperma yang diamati (Ridwan, 2009).

Menurut Husin dkk. (2007), menggambarkan bahwa ada dua jenis abnormalitas pada spermatozoa, abnormalitas primer melibatkan beberapa kondisi seperti kepala yang besar (macrocephalic), kepala yang kecil (microcephalic), kepala yang ganda (double cephalic), kepala yang tidak berkembang (developed cephalic), kepala yang bulat (round cephalic), kepala yang pipih (narrow cephalic), leher yang berliku (kink midpiece), leher yang bercabang dua (double midpiece), leher yang patah (broken midpiece), ekor yang melengkung (bent tail), dan ekor yang melingkar (coil tail). Sedangkan abnormalitas sekunder mencakup kondisi seperti ekor yang terputus, hanya kepala sperma, dan adanya droplet sitoplasma.

2.3 Air Tebu

Apabila semen harus diencerkan, dibutuhkan penambahan glukosa dan fruktosa ke dalam pengencer sebagai sumber energi untuk spermatozoa, namun, glukosa dan fruktosa adalah bahan anorganik yang sulit diperoleh dan relatif mahal, oleh karena itu, perlu mencari alternatif bahan pengganti yang ekonomis dan mudah diperoleh, serta memenuhi persyaratan sebagai pengencer dan mengandung unsur yang diperlukan oleh spermatozoa, salah satu pilihan bahan organik sebagai pengganti adalah air tebu, dimana air tebu memiliki kandungan bahan kering sekitar 20-25% dan mengandung amilum (karbohidrat) dalam bentuk sukrosa (gula tebu), yang terdiri dari glukosa dan fruktosa (Yovita dan Sumiarsih, 2000).

Dalam 100g batang tebu, terdapat sekitar 62 kalori, 82,5 g air, 0,6 g protein, 0,1 g lemak, 16,5 g karbohidrat, 3,1 g serat, 0,3 g abu, serta kandungan mineral seperti 8 mg kalsium, 6 mg fosfor, 1,4 mg zat besi, 0,02 mg tiamin, 0,01 mg riboflavin, 0,10 mg niasin, dan 3 mg asam askorbat (Duke dan Atchley, 1984). Amilum atau karbohidrat yang terdapat dalam air tebu dapat digunakan oleh spermatozoa sebagai sumber energi. Kandungan sukrosa yang terdapat dalam air tebu dapat mengalami metabolisme melalui dua jalur yang berbeda, Pertama, sukrosa dapat mengalami proses glikolisis. Kedua, alternatifnya, sukrosa dapat melanjutkan perjalanan metabolismenya dengan memasuki siklus Krebs melalui reaksi asam trikarboksilat. Hasil dari kedua jalur ini adalah produksi energi dalam bentuk ADP dan ATP yang nantinya akan dimanfaatkan oleh sperma dalam pergerakan mereka (Pramono dan Taswin, 2008).

Semakin banyak ekstrak air tebu yang diberikan, sukrosa dalam ekstrak tersebut akan semakin berperan dalam melindungi membran sel dari kerusakan selama proses penyimpanan pada suhu rendah sebagai krioprotektan ekstraseluler (Surachman dkk. 2008). Semakin tinggi level sari air tebu maka semakin tinggi ketersediaan makanan bagi spermatozoa sehingga tetap mempertahankan keseimbangan tekanan osmotik dan lipoprotein dan lesitin mampu melindungi integritas selubung membran plasma spermatozoa sehingga dapat menekan kerusakan membran plasma pada spermatozoa, lebih lanjut menurut Susilawati (2011), menyatakan bahwa lipoprotein dan lesitin mampu mempertahankan dan melindungi integritas selubung membran plasma spermatozoa sehingga dapat menekan kerusakan membran plasma pada spermatozoa.

2.4 Tris Kuning Telur

Pengencer Tris Aminomethan memiliki bahan atau zat yang diperlukan oleh spermatozoa yang merupakan sumber makanan baginya, antara lain fruktosa, laktosa, rafinosa, asam-asam amino dan vitamin dalam kuning telur sehingga spermatozoa dapat memperoleh sumber energi dalam jumlah yang cukup, dimana kuning telur merupakan krioprotektan ekstraseluler mengandung lipoprotein dan lesitin yang melindungi membran sel spermatozoa untuk mencegah terjadinya cold shock selama pendinginan pada suhu 5°C (Susilawati, 2013). Lebih lanjut

telur adalah salah satu produk unggas yang memiliki nilai gizi tinggi dan lengkap, dengan harga yang terjangkau, serta mudah untuk ditemukan. Menurut Yuwanta (2010), komposisi asam amino dalam telur secara komparatif lebih baik dibandingkan dengan susu atau daging. Telur kaya akan asam amino esensial seperti lisin, triptofan, dan terutama metionin yang termasuk dalam asam amino esensial terbatas. Selain itu, telur juga mengandung asam lemak tak jenuh ganda, berbagai jenis vitamin, mineral, dan mikro mineral yang sangat penting. Berkat kekayaan gizi ini, telur dapat memberikan perlindungan tubuh dari penyakit.

Telur utuh memiliki beberapa komponen, yakni sekitar 66% air dan 34% bahan kering, yang terdiri dari sekitar 12% protein, 10% lemak, 1% karbohidrat, dan 11% abu. Dalam bahan kering ini, kandungan protein, lemak, dan abu hampir seimbang, sedangkan kandungan karbohidrat yang paling rendah. Kuning telur merupakan salah satu komponen telur yang memiliki kandungan nutrisi paling tinggi. Kuning telur mengandung sekitar 48% air dan 33% lemak. Selain komponen utama seperti protein, lemak, karbohidrat, dan abu, kuning telur juga mengandung vitamin, mineral, pigmen, dan kolesterol (Angkoso, 1993). Salisbury dan Vandemark (1985) mengungkapkan bahwa semen mengandung asam sitrat yang memiliki manfaat penting bagi spermatozoa. Sitrat natricus akan meningkatkan konsentrasi kalsium dan logam-logam berat lainnya, serta menghilangkan butiran lemak dalam kuning telur, sehingga memungkinkan pengamatan spermatozoa secara individual di bawah mikroskop. Kuning telur memiliki lipoprotein dan lesitin sebagai komponen yang dapat menjaga serta melindungi keutuhan selubung lipoprotein pada sel-sel spermatozoa (Manjunath, 2012).

2.5 Pengencer Semen

Pengencer semen adalah bahan-bahan yang digunakan untuk menjaga dan melindungi spermatozoa selama penyimpanan agar dapat digunakan dalam proses inseminasi buatan. Pengencer yang digunakan harus memenuhi persyaratan tertentu untuk memastikan bahwa metabolisme dan respirasi spermatozoa berjalan dengan baik. Beberapa komponen yang harus ada dalam pengencer ini meliputi sifat isotonik (dalam kisaran 280-310 mOsm/kg), kemampuan sebagai buffer

(untuk mengatur pH), perlindungan terhadap cold shock, fungsi sebagai sumber energi, kemampuan mengendalikan kontaminasi mikroba, memberikan perlindungan selama pembekuan dan pencairan, serta menjaga kesuburan spermatozoa (Raheja dkk. 2018).

Proses pengenceran semen dipengaruhi oleh sejumlah faktor, termasuk volume semen, konsentrasi semen, persentase spermatozoa yang hidup dan bergerak dengan baik, serta jumlah semen yang akan digunakan untuk inseminasi (Ax dkk. 2000). Jenis pengencer yang diterapkan dapat menghasilkan penilaian yang beragam mengenai kualitas spermatozoa, tergantung pada komposisi pengencernya. Pengencer yang digunakan harus mampu menjaga spermatozoa selama penyimpanan dan memberikan tingkat konsepsi yang tinggi di lapangan (Kulaksiz dkk. 2010).

BAB III

MATERI DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Dinas Tanaman Pangan, Holtikultura dan Peternakan Provinsi Jambi, pada tanggal 23 Februari 2024 sampai dengan 23 Maret 2024.

3.2 Materi dan Peralatan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan adalah ini yaitu: semen sapi Simmental, tris amino methane, asam sitrat, fruktosa, air tebu, kuning Telur, alkohol 70%, vaselin, eosin negrosin, penicillin, streptomycin, NaCl fisiologis, aquades, tissue.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah; water bath, vagina buatan, mikroskop, magnetic stirrer, pipet, objek glass, cover glass, ember, pembakar bunsen, dan tabung reaksi.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Penampungan Semen

Sebelum dilakukan penampungan semen ternak jantan harus dimandikan terlebih dahulu agar ternak menjadi lebih segar. Penampungan semen dilakukan dengan cara ternak jantan digunakan sebagai pemancing yang dimasukkan kedalam kandang penjepit. Lalu ternak jantan di dekatkan ke ternak pemancing, hal ini bertujuan agar mempertinggi libido ternak jantan, sehingga kuantitas serta kualitas semen yang didapatkan lebih maksimal. Penampungan semen dilakukan dengan vagina buatan. Semen yang telah tertampung dinilai secara makroskopis dan mikroskopis. Penilaian secara makroskopis meliputi volume, warna, konsistensi, dan pH semen. Sedangkan secara mikroskopis meliputi motilitas, viabilitas, dan abnormalitas. Semen yang pantas untuk dipreservasi adalah yang memiliki motilitas paling kecil 70 persen, abnormalitas dibawah 20 persen, dan konsentrasi sperma diatas 500×10^6 sel/mL (Gunawan dkk. 2012).

3.3.2 Pembuatan Bahan Pengencer Tris-Kuning Telur Air Tebu

Proses pembuatan pengencer tris-kuning telur air tebu, yang pertama siapkan bahan-bahannya lalu timbang terlebih dahulu untuk bahan seperti Tris aminomethane, asam sitrat, fruktosa sesuai perlakuan. Lalu masukkan kedalam tabung yang berisi aquades hingga 100 ml dan dihomogen dengan magnetik stirrer. Selanjutnya ambil telur ayam kampung beserta dengan bahan atau alat lainnya, lalu bersihkan kerabang telur menggunakan alkohol 70%, lalu pecahkan telur bagian atas sedikit untuk mengeluarkan putih telur, karena yang diperlukan adalah kuning telur. Selanjutnya masukkan kuning telur 20 ml kedalam gelas ukur dan tambahkan larutan pengencer tris sampai dengan 100 ml lalu dihomogen dengan magnetik stirrer. Setelah tercampur masukkan air tebu sesuai perlakuan dan tambah antibiotik yaitu penisilin dan streptomisin, lalu homogenkan diatas magnetic stirrer sampai tercampur rata, untuk selanjutnya dimasukkan kedalam pendingin dan siap untuk proses pengenceran. Adapun Komposisi bahan pengencer tris-kuning telur dengan fruktosa air tebu dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Bahan Pengencer Tris-Kuning Telur Air Tebu

	Kelompok Perlakuan (%)				
	P0	P1	P2	P3	P4
Tris Aminomethane	80	79,5	79	78,5	78
Fruktosa	2	1,5	1	0,5	0
Kuning Telur	20	20	20	20	20
Air Tebu	0	0,5	1	1,5	2
Volume Total	100	100	100	100	100

3.3.3 Pengenceran Semen

Semen sapi Simmental segar diencerkan dengan menggunakan pengencer tris-kuning telur yang substitusi fruktosa dengan air tebu. Langkah-langkah dalam pengenceran semen adalah hidupkan water bath sampai dengan suhu 37°C. selanjutnya hitung volume pengencer dan masukkan pengencer ke dalam tabung reaksi. Lalu tempatkan di water bath sehingga pengencer dan semen suhunya sama. Selanjutnya tambahkan semen ke dalam tabung yang berisi bahan pengencer. Tabung reaksi yang berisi semen disimpan selama 3 hari dengan suhu 5°C dan dilakukan pengamatan terkait motilitas, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa.

3.4 Rancangan Penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) (Steel and Torrie, 1993) dengan 5 perlakuan yaitu P₀, P₁, P₂, P₃ dan P₄, dengan 5 ulangan. Perlakuan yang diberikan dalam penelitian ini adalah substitusi fruktosa dengan air tebu dalam pengencer tris-kuning telur, sebagai berikut:

P₀ = pengencer tris-kuning telur dengan 2% fruktosa tanpa air tebu

P₁ = pengencer tris-kuning telur dengan 1.5% fruktosa + air tebu 0.5%

P₂ = pengencer tris-kuning telur dengan 1% fruktosa + air tebu 1%

P₃ = pengencer tris-kuning telur dengan 0.5% fruktosa + air tebu 1.5%

P₄ = pengencer tris-kuning telur dengan 0% fruktosa + air tebu 2%

3.5 Peubah Yang Diamati

Semen yang disimpan selama 3 hari dengan suhu penyimpanan 5°C, adapun peubah yang diamati pada penelitian ini ialah motilitas, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa.

3.5.1 Motilitas Spermatozoa

Motilitas diukur melalui metode estimasi (Junaedi dkk. 2016), untuk mengamati motilitas spermatozoa, dilakukan dengan menambahkan satu tetes semen ke dalam 10 tetes NaCl fisiologis. Estimasi motilitas spermatozoa dilakukan dengan mengambil hasil dari lima lapangan pandang yang kemudian dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{ Motilitas} = \frac{\text{jumlah spermatozoa progresif}}{\text{total spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

3.5.2 Viabilitas Spermatozoa

Cara untuk mengukur persentase viabilitas spermatozoa adalah dengan membuat preparat menggunakan pewarna eosin-nigrosin, yang kemudian diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x. Spermatozoa yang masih hidup tidak akan menyerap pewarna, sementara spermatozoa yang mati akan menyerap pewarna. Susilawati (2013) menjelaskan bahwa spermatozoa yang masih hidup memiliki membran yang masih berfungsi dengan baik, sehingga pewarna tidak

dapat masuk ke dalamnya. Sebaliknya, spermatozoa yang mati memiliki membran yang sudah tidak berfungsi, sehingga pewarna dapat masuk ke dalam membrannya. Penentuan persentase viabilitas spermatozoa menggunakan rumus:

$$\% \text{ Viabilitas} = \frac{\text{Jumlah Spermatozoa Hidup}}{\text{Jumlah Spermatozoa Yang Diamati}} \times 100\%$$

3.5.3 Abnormalitas Spermatozoa

Pemeriksaan abnormalitas Spermatozoa dihitung dari jumlah persentase spermatozoa yang masih memiliki cytoplasmic dan spermatozoa yang mengalami abnormalitas sekunder. Abnormalitas primer meliputi kepala lonjong, kepala besar, ekor patah, leher bengkok, sedangkan yang sekunder meliputi kepala putus, ekor bengkok dan ekor putus. Persentase abnormalitas dihitung menggunakan prepareate ulas diperiksa dibawah mikroskop dengan pembesaran 10 x 40 minimal 200 sel spermatozoa. Penentuan persentase abnormalitas spermatozoa menggunakan rumus:

$$\% \text{ Abnormalitas} = \frac{\text{Jumlah Spermatozoa Abnormal}}{\text{Jumlah Spermatozoa Yang Diamati}} \times 100\%$$

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan sidik ragam (Anova), perlakuan berpengaruh nyata terhadap peubah yang diamati. Perhitungan data dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan. Analisis dilakukan dengan softwear SPSS 27 for macOS.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Karakteristik Semen Segar Sapi Simmental

Karakteristik semen segar menurut Komariah *dkk.* (2013) menyatakan terdapat perbedaan yang signifikan dari warna, volume, pH, konsistensi, motilitas individu, motilitas massa, dan konsentrasi spermatozoa. Beberapa hal yang dapat mempengaruhi kualitas semen segar yaitu seperti metode yang digunakan saat penampungan, faktor dari lingkungan, manajemen yang digunakan, umur dari sapi pejantan yang digunakan, dan individu (Rizal dan Herdis, 2008). Hasil pemeriksaan kualitas semen segar sapi Simmental setelah penampungan dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Karakteristik Semen Segar Sapi Simmental

Parameter	Hasil Pengamatan
Makroskopis	
Volume (ml)	5,42±0,69
Warna	Putih Susu
Konsistensi	Agak Cair
pH	6,6
Mikroskopis	
Gerakan massa	++
Konsentrasi (juta/ml)	511,8±19,48
Motilitas (%)	75,06±0,96
Viabilitas (%)	79,20±0,78
Abnormalitas (%)	8,25±1,31

Keterangan: ++ : Gelombang Massa Baik

Berdasarkan pada tabel 2, semen yang diperoleh sebanyak 5,42±0,69 ml menunjukkan sedikit lebih rendah dibandingkan dengan hasil penelitian Khairi, (2016) di BIB Ungaran yang menghasilkan volume semen 6,1 ml untuk sapi pejantan Simmental, dan hasil penelitian Alawiyah (2021) volume semen sapi Brahman di BIB Lembang yang menghasilkan volume 6,55 ml. Hal ini sesuai dengan penelitian Fuerst-waltl *dkk.* (2006) yang menyatakan bahwa umur memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap volume semen sapi Simmental Australia, Hal ini sesuai dengan pendapat Ismaya (2014) yang

menyatakan bahwa semakin tua umur sapi, maka produksi semen sapi akan meningkat, karena umur berkorelasi dengan besar testis, semakin besar testis, maka tubuliseminiferi akan semakin banyak dan produksi sel spermatozoa akan meningkat. Hasil penelitian Paldusova dkk. (2014) menyatakan pada kelompok umur >5 tahun menunjukkan hasil optimal dan pada umur <2 tahun menunjukkan hasil terendah.

Rataan warna semen segar yang berasal dari sapi pejantan Simmental pada hasil Tabel 2, berwarna putih susu. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Brillianti dkk. (2021), warna yang dianggap baik pada semen sapi segar meliputi putih susu, krem, atau putih kekuningan. Hal ini sejalan dengan temuan penelitian oleh To'aloh, dkk. (2023) di BIB Singosari, di mana mereka mencatat warna semen yang berupa putih susu pada sapi Peranakan Ongole, sedangkan sapi Brahman di BIB Lembang menghasilkan variasi warna semen, termasuk putih susu, krem, dan kuning (Alawiyah dkk. 2021). Berdasarkan pada tabel 2, konsistensi yang diperoleh tergolong dalam kategori agak cair dengan konsentrasi yang diperoleh sebanyak 511.8 juta/ml. Derajat kekentalan yang terkait dengan konsentrasi spermatozoa disebut konsistensi. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Kumar dkk. (2015), semen sapi pejantan Simmental yang memiliki konsistensi kental atau berwarna krem memiliki kisaran 1.000- 2.000 juta spermatozoa per mililiter, sementara jika konsistensinya lebih encer, jumlah spermatozoa per mililiter berkisar antara 500- 900 juta.

Rata-rata pH semen sapi simental pada penelitian ini adalah 6,6, Hasil tersebut hampir sama dengan penelitiannya Yanuarista dkk. (2022) di BIB Sidomulyo Ungaran yang menghasilkan pH semen 6,4 untuk sapi Simmental. Sunami dkk. (2017) menyimpulkan bahwa terdapat hubungan antara tinggi dan rendahnya nilai pH semen dengan konsentrasi spermatozoa. Konsentrasi spermatozoa yang tinggi dapat menyebabkan perubahan pH semen ke arah yang bersifat asam, tetapi masih dalam batas normal. Menurut Gunawan dkk. (2020) semen segar pada pH sapi perah berkisar antara 6,4 hingga 7,8. Dan pH semen segar sapi dianggap normal berkisar diantara 6,2 - 6,8 (Ismaya, 2014).

Gerakan massa semen segar sapi Simmental yang diperoleh mempunyai nilai (++), sesuai dengan pendapat Toelihere dkk. (1985) yang menyatakan

bahwa gerakan massa spermatozoa yang normal dan dapat diproses lebih lanjut jika gerakan massa berkisar antara (++) dan (+++) dan memiliki nilai motilitas individu di atas 40%. Persentase motilitas semen segar pada penelitian kali ini adalah 75,06%. hasil penelitian Yanuarista dkk. (2022) di BIB Sidomulyo Ungaran yang menghasilkan motilitas semen segar 69-71 untuk sapi Simmental. Motilitas semen sapi Brahman di BIB Lembang yang menghasilkan motilitas 66,03-69,51 (Alawiyah dkk. 2021). Motilitas spermatozoa dalam semen dapat dipengaruhi oleh suhu dan kondisi cairan atau plasma semen selama pemeriksaan, yang kemudian berdampak pada tinggi rendahnya persentase motilitas tersebut. Ismaya (2014) dalam penelitiannya menjelaskan bahwa motilitas spermatozoa dapat dipengaruhi oleh beberapa hal yaitu, suhu dingin akan menghambat motilitas, sedangkan suhu panas meningkatkan motilitas spermatozoa zat kimia. Kontaminasi semen oleh urin dan kotoran sapi dapat mengakibatkan penurunan motilitas spermatozoa. Pada umumnya, pada ejakulat pertama setelah istirahat yang panjang, terdapat jumlah yang signifikan dari sel spermatozoa yang tidak aktif.

Viabilitas Spermatozoa semen segar pada penelitian ini sebesar $79,20 \pm 0,78\%$. Semen segar dapat diproses menjadi semen beku apabila memiliki jumlah spermatozoa hidup minimal 70% (Shukla, 2011), Viabilitas dapat dilihat dengan cara menghitung spermatozoa yang hidup dan yang mengalami kematian. Spermatozoa yang hidup dan mati dapat dibedakan reaksinya terhadap warna tertentu, spermatozoa yang tidak motil dan dianggap mati menghisap warna dan spermatozoa yang motil dan yang hidup tidak berwarna. Menurut Arifiantini dkk. (2010), untuk dilakukan proses menjadi semen beku diharapkan abnormalitas spermatozoa primer tidak melebihi 10%. Tingkat abnormalitas spermatozoa segar pada penelitian ini seperti terlihat pada tabel 2, rata rata sebesar 8,25%, secara umum dibawah 20%, bisa diterima untuk dilakukan proses pengenceran. Peters (2004) menyatakan bahwa tingkat abnormalitas spermatozoa dianggap penting hanya bila terjadi dalam kisaran 18 sampai 20%.

4.2 Pengaruh Perlakuan Terhadap Motilitas Spermatozoa

Motilitas spermatozoa merupakan parameter yang sangat penting untuk mengevaluasi tingkat fertilitas spermatozoa (Yaghoobi dkk. 2022). Hasil pemeriksaan terhadap motilitas spermatozoa sapi Simmental pada masing masing perlakuan dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Rataan persentase motilitas spermatozoa sapi Simmental dalam pengencer air tebu berbagai tingkat konsentrasi

Perlakuan	Motilitas (%)
P0	42,03±2,22 ^c
P1	45,47±0,70 ^b
P2	49,53±0,83 ^a
P3	39,08±3,95 ^c
P4	32,87±2,90 ^d

Keterangan : Superskrip dengan huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan sangat nyata ($P<0,01$)

Tabel 3, menunjukkan hasil analisis ragam bahwa pemberian air tebu pada tris-kuning telur yang disubstitusikan kandungan fruktosa berpengaruh sangat nyata ($P<0,01$) terhadap motilitas spermatozoa sapi Simmental. Persentase motilitas pada perlakuan P2 sangat nyata lebih tinggi terhadap P3 dan P4, nyata lebih tinggi terhadap P0, sedangkan tidak nyata lebih tinggi terhadap P1. Persentase motilitas P1 sangat nyata lebih tinggi terhadap P4, namun tidak nyata lebih tinggi terhadap P0 dan P3. Nilai persentase motilitas pada P0 sangat nyata lebih tinggi terhadap dengan P4 dan tidak nyata terhadap P3. Nilai persentase motilitas pada P3 nyata lebih tinggi dibandingkan P4.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa nilai persentase motilitas paling tinggi terdapat pada perlakuan P2 sebesar 49,53%, dan diikuti oleh perlakuan P1 sebesar 45,47%. Nilai kedua perlakuan lebih tinggi dibandingkan pada perlakuan P0 sebesar 42,03%. Hal ini diduga karena adanya faktor perubahan tekanan osmotik pengencer, dimana efek yang ditimbulkan adalah muncul gejala osmotic-shock pada spermatozoa, yang ditandai dengan kerusakan pada membran plasma spermatozoa, sehingga proses metabolisme terganggu dan pada akhirnya menurunkan motilitas spermatozoa. Sesuai dengan pendapat Maxwell dan Watson (1996), menurunnya motilitas spermatozoa juga disebabkan karena perlakuan yang menimbulkan kerusakan dan kematian spermatozoa, karena selama proses

thawing spermatozoa rentan sekali terhadap kerusakan sel akibat perubahan tekanan osmotik secara tiba-tiba yang disebabkan oleh pencairan yang cepat, dimana spermatozoa yang mempunyai kemampuan daya membran plasma kuat yang mampu bertahan. Sejalan dengan penelitian Susilawati (2013), pada perlakuan mampu mempertahankan pH semen dan adanya media yang isotonik sehingga pada kondisi tersebut dapat untuk mencegah perubahan pH akibat metabolisme spermatozoa berupa asam laktat dan mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit, dipertegas pernyataan BIB Singosari, (1992), tris merupakan penyanggah untuk mencegah perubahan pH akibat asam laktat dan metabolisme spermatozoa serta mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit.

Menurut Yildiz dkk. (2000), fungsi karbohidrat dalam pengencer adalah sebagai krioprotektan, mempertahankan tekanan osmotik pengencer serta keutuhan membran plasma, juga menyediakan substrat energi untuk kebutuhan spermatozoa selama proses penyimpanan. Nalley dkk. (2007) menyatakan bahwa selama penyimpanan semen berlangsung akan terjadi kerusakan terhadap dekomposisi protein pada membran sel sehingga lapisan lipoprotein pada sel akan menyebabkan terjadinya denaturasi protein yang disebabkan reaksi peroksidasi pada membran, dimana kerusakan membran bisa diminimalisirkan dengan adanya penambahan krioprotektan sukrosa dalam tris kuning telur dalam pengencer selama penyimpanan berlangsung. Dipertegas Rizal dkk. (2007), jenis gula yang ditambahkan dalam pengencer akan berasosiasi dengan karbohidrat pada lapisan membran plasma sel yang rusak selama penyimpanan sehingga karbohidrat sebagai pengganti struktur selubung sel yang rusak secara mekanis tetap utuh.

Pada perlakuan P3 terjadi penurunan persentase motilitas dengan nilai 39,08% dan perlakuan P4 sebesar 32,87%. Nilai kedua perlakuan tersebut lebih rendah jika dibandingkan dengan perlakuan P0 dengan nilai sebesar 42,03%. Hal ini diduga, bahwa akibat dari tingginya perubahan tekanan osmotik yang terjadi, maka terjadi kerusakan membran plasma utuh spermatozoa. Sesuai dengan pendapat Apriyanti (2012), perubahan tekanan osmotik dapat menyebabkan pecahnya membran plasma spermatozoa, dimana kondisi membran plasma yang baik akan memberikan pengaruh yang baik pula pada motilitas dikarenakan pada

membran plasma banyak mengandung makromolekul yang berfungsi dalam proses metabolisme dan melindungi organel sel spermatozoa.

Zat terlarut yang terlalu banyak akan meningkatkan tekanan osmotik media, sehingga berdampak buruk terhadap daya hidup spermatozoa (Kulaksiz dkk. 2013). Situmorang (2002), menjelaskan bahwa penurunan motilitas spermatozoa terjadi karena turunnya kandungan phospholipid yang merupakan komponen membran sel spermatozoa, sehingga antar perlakuan memiliki penurunan nilai yang signifikan akibat dari lama penyimpanan yang dilakukan. Menurut Sugiarti dkk. (2004) proses pendinginan pada suhu 5°C akan menyebabkan penurunan motilitas spermatozoa akibat adanya asam laktat sisa metabolisme sel yang menyebabkan kondisi medium menjadi semakin asam karena penurunan pH.

4.3 Pengaruh Perlakuan Terhadap Viabilitas Spermatozoa

Viabilitas spermatozoa adalah kemampuan spermatozoa untuk bertahan hidup setelah pengenceran dan merupakan salah satu indikator penting dalam menentukan kualitas spermatozoa karna semakin banyak spermatozoa yang hidup maka peluang untuk membuahi sel telur saat kopulasi sangat tinggi. Hasil pemeriksaan terhadap viabilitas spermatozoa sapi Simmental pada masing masing perlakuan dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Rataan Persentase Viabilitas Spermatozoa Sapi Simmental Dalam Pengencer Air Tebu Berbagai Tingkat Konsentrasi.

Perlakuan	Viabilitas (%)
P0	44,74±1,65 ^{bc}
P1	49,14±3,73 ^{ab}
P2	51,64±1,10 ^a
P3	41,78±6,76 ^c
P4	35,75±3,08 ^d

Keterangan : Superskrip dengan huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan sangat nyata ($P<0,01$)

Dari Tabel 4, dapat dilihat berdasarkan analisis ragam menunjukkan bahwa pemberian air tebu pada tris-kuning telur yang disubstitusikan kandungan fruktosa berpengaruh sangat nyata ($P<0,01$) terhadap viabilitas spermatozoa sapi Simmental. Persentase viabilitas pada P2 sangat nyata lebih tinggi terhadap P0, P3 dan P4, namun nyata lebih tinggi terhadap P1. Nilai viabilitas P1 sangat nyata

lebih tinggi terhadap P3 dan P4, dan nyata lebih tinggi terhadap P0. Nilai viabilitas P0 sangat nyata lebih tinggi terhadap P4, namun nyata lebih tinggi terhadap P3. Nilai viabilitas P3 sangat nyata lebih tinggi terhadap P4.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa persentase viabilitas Spermatozoa tertinggi terdapat pada perlakuan P2 sebesar 51,64% dan nilai viabilitas tertinggi selanjutnya pada perlakuan P1 sebesar 49,19%. Kedua persentase perlakuan tersebut lebih tinggi jika dibandingkan dengan nilai persentase P0 dengan persentase viabilitas sebesar 44,74%. Hal ini diduga karena meningkatnya tekanan osmotik larutan pengencer, sesuai dengan pendapat Maulida (2014), kenaikan hipertonik tekanan osmotik dapat mengakibatkan penurunan permeabilitas membran plasma spermatozoa serta cairan berpindah dari bagian dalam sel spermatozoa keluar tubuh spermatozoa, yang meningkatkan persentase kematian sel spermatozoa. Persentase hidup spermatozoa ditentukan oleh adanya kerusakan pada membran plasma spermatozoa. Sesuai dengan pendapat Zulfan (2008), yang menyatakan bahwa membran plasma berfungsi melindungi serta menjaga keseimbangan elektrolit baik intra maupun ekstraseluler, dimana rusaknya membran plasma menyebabkan terganggunya proses metabolisme dan proses fisiologis spermatozoa sehingga menyebabkan kematian spermatozoa.

Perlakuan P4 2% air tebu ke dalam pengencer tris kuning telur tanpa fruktosa memiliki nilai viabilitas sebesar 35,75%. Nilai viabilitas pada perlakuan ini lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan 1,5% air tebu, dan lebih rendah dari perlakuan tanpa air tebu. Hal ini diduga karena larutan yang hipertonik, dimana larutan media pengencer yang bersifat hipertonik dapat menyebabkan osmolaritas meningkat, lebih lanjut osmolaritas yang lebih tinggi dari normal dapat menyebabkan penurunan viabilitas (Kusumawati, 2022). Lebih lanjut terjadi karena tingginya asam laktat yang dihasilkan oleh sukrosa pada saat metabolisme yang menyebabkan pH pengencer menurun dan disebabkan oleh semakin berkurang kandungan nutrisi yang terkandung dalam bahan pengencer sari air tebu kuning telur dan semakin bertambahnya lama waktu penyimpanan sehingga persentase spermatozoa hidup yang dihasilkan juga menurun. Dipertegas Blegur dkk. (2020), bahwa nutrisi akan digunakan oleh spermatozoa untuk dijadikan

energi sehingga apabila kebutuhan nutrisi spermatozoa berkurang maka akan mengakibatkan viabilitas spermatozoa menjadi menurun.

4.4 Pengaruh Perlakuan Terhadap Abnormalitas

Abnormalitas merupakan kelainan bentuk yang dialami oleh spermatozoa. Bentuk spermatozoa yang normal terdiri dari kepala, leher bagian tengah dan ekor yang sesuai dengan bentuk morfologinya (Leyn dkk. 2021). Abnormalitas merupakan salah satu indikator penting dalam menentukan kualitas spermatozoa karena spermatozoa yang abnormal tidak dapat membuahi sel telur. Hasil pemeriksaan terhadap abnormalitas spermatozoa sapi Simmental pada masing masing perlakuan dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Rataan Persentase Abnormalitas Spermatozoa Sapi Simmental Dalam Pengencer Air Tebu Berbagai Tingkat Konsentrasi.

Perlakuan	Abnormalitas (%)
P0	6,22±0,38
P1	5,98±0,87
P2	5,86±1,37
P3	6,55±0,53
P4	6,80±0,86

Dari Tabel 5, dapat dilihat berdasarkan analisis ragam menunjukkan bahwa pemberian air tebu pada tris-kuning telur yang disubstitusikan kandungan fruktosa tidak berbeda nyata ($P>0,05$) terhadap abnormalitas spermatozoa sapi Simmental.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa persentase abnormalitas spermatozoa paling tinggi terdapat pada perlakuan P4 sebesar 6,80%, dan nilai abnormalitas perlakuan P3 sebesar 6,55%. Persentase abnormalitas perlakuan pada P0 sebesar 6,22%. Hal ini diduga karena pembuatan preparat ulas, yang dimana dapat meningkatkan angka persentase abnormalitas spermatozoa. Jenis abnormalitas yang banyak ditemukan adalah abnormalitas sekunder dengan kasus kepala dan ekor terputus yang kemungkinan disebabkan karena pembuatan preparat ulas. Abnormalitas terjadi diduga karena membran sel spermatozoa mengalami kerusakan yang menyebabkan membran sel tidak stabil akibat pengolahan semen mulai dari proses penampungan, pengenceran, penyimpanan

dan penanganan setelah penyimpanan. Abnormalitas pada spermatozoa berhubungan dengan kesuburan. Dengan demikian bahwa pengaruh tingginya abnormalitas berasal dari prosesing penyimpanan dan kondisi fisiologis dari pengencer tersebut, selain itu juga dari faktor pejantan saat penampungan yang berhubungan dengan fertilitas ternak itu sendiri (Susilawati, 2013). Sejalan dengan penelitian Herdiawan (2004), terjadinya perubahan fisik media hidup spermatozoa baik perubahan tekanan osmotik, maupun pembentukan kristal es intraseluler dapat menyebabkan perubahan struktur spermatozoa seperti ekor spermatozoa membengkok atau kepala terlepas dari ekornya.

Hal ini sesuai dengan pendapat Menurut Herdiawan (2004), perbedaan konsentrasi cairan intraseluler dengan ekstraseluler akan menimbulkan perubahan tekanan osmotik sel selama penyimpanan, sehingga akan menyebabkan selubung lipoprotein pecah dan membran sel mengalami kerusakan. Kondisi tersebut dapat menyebabkan spermatozoa menjadi abnormal. Menurut Sholihati dkk. (2008) abnormalitas spermatozoa terjadi karena adanya suhu dingin dan tekanan osmotik yang tidak seimbang akibat dari proses metabolik yang terus berlangsung selama masa penyimpanan pada suhu 5°C.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa substitusi fruktosa dengan air tebu kedalam pengencer tris kuning telur sampai 1% dapat mempertahankan kualitas semen sapi simmental pada suhu penyimpanan 5⁰C selama 3 hari.

5.2 Saran

Disarankan adanya penelitian tentang osmositas pengencer yang disubstitusi fruktosa dengan air tebu.

DAFTAR PUSTAKA

- Alawiyah, A., Rohayati, T., & Hadist, I. (2021). Analisis Hubungan Bobot Badan Dengan Karakteristik Kualitatif Dan Kuantitatif Semen Sapi Brahman Di Balai Inseminasi Buatan Lembang Bandung. *JANHUS Jurnal Ilmu Peternakan Journal of Animal Husbandry Science*, 5(2), 172-182.
- Arifiantini, R. I., & Yusuf, T. L. (2006). Keberhasilan penggunaan tiga pengencer dalam dua jenis kemasan pada proses pembekuan semen sapi Frisien Holstein. *Majalah Ilmiah Peternakan*, 9(3), 164-180.
- Apriyanti, C. (2012). Pengaruh Ekuilibrase Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Pesisir Pre dan Post Thawing. *Skripsi Ilmu Produksi Ternak*, Fakultas Peternakan, Universitas Andalas, Padang.
- Akoso, B. T. (1993). *Manual kesehatan unggas*. Kanisius. Yogyakarta, Hlm, 93-94.
- Amaral, A., Lourenço, B., Marques, M., & Ramalho-Santos, J. (2013). Mitochondria functionality and sperm quality. *Reproduction*, 146(5), R163-R174.
- Anwar, P., Ondho, Y., & Samsudewa, D. (2014). Pengaruh pengencer ekstrak air tebu dengan penambahan kuning telur terhadap kualitas spermatozoa sapi Bali. *Jurnal Peternakan*, 11(2), 48-58.
- Ax RL, Dally M, Didion B. A, Lenz RW, LoveCC, Varner D. D, Hafez B, and Belin ME. (2000). Semen evaluation in reproduction in farm animals. *Lippincott William & Wilkins: Baltimore, Maryland, USA*. 365-375.
- Bardan, B., Feradis, F., & Adelina, T. (2009). Penggunaan air tebu yang dikombinasikan dengan kuning telur sebagai pengencer semen sapi bali. *Jurnal Peternakan*, 6(2).
- Blakely D. dan H. Bade. (1998). *Ilmu peternakan*, 4th ed. Alih bahasa oleh Srigandono, B. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Blegur, J., Nalley, W. M., & Hine, T. M. (2020). Pengaruh Penambahan virgin coconut oil dalam pengencer tris kuning telur terhadap kualitas spermatozoa sapi bali selama preservasi (influence addition virgin coconut oil in tris egg yolk on the quality of bali bull spermatozoa during preservation). *Jurnal Nukleus Peternakan*, 7(2), 130-138.
- Brillianti, F. F., Srianoto, P., Sardjito, T., Suprayogi, T. W., Triana, I. N., & Rahardjo, D. (2021). Kualitas semen sapi pejantan berdasarkan umur, suhu, dan kelembaban di Taman Ternak Pendidikan Universitas Airlangga. *Ovozoa: Journal of Animal Reproduction*, 10(3), 81-89.
- Centola, G. M. (2018). *Semen Analysis. Encyclopedia of Reproduction*. Publisher Elsevier Science Publishing Co Inc, USA.

- Crespilho, A. M., Sá Filho, M. F., Dell'Aqua Jr, J. A., Nichi, M., Monteiro, G. A., Avanzi, B. R., dan Papa, F. O. (2012). Comparison of in vitro and in vivo fertilizing potential of bovine semen frozen in egg yolk or new lecithin based extenders. *Livestock Science*, 149(1-2), 1-6.
- Duke, J. A., & Atchley, A. A. (1984). Proximate analysis. The handbook of plant science in agriculture. CRC Press, Inc., Boca Raton, FL, 145-149.
- Duma, Y., Mumu, M. I., Ladjama, M. R., A'fia, N., Abas, A. M., & Ringgiallo, A. (2021). Effects of various diluents on the quality and shelf life of Donggala bull semen. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 902, No. 1, p. 012005). IOP Publishing.
- Erwinda, M. D., & Wahono, H. S. (2014). The effect of lime concentration addition and cane juice ph value on brown sugar quality. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 2(3), 54-64.
- Fuerst-Waltl, B., Schwarzenbacher, H., Perner, C., & Sölkner, J. (2006). Effects of age and environmental factors on semen production and semen quality of Austrian Simmental bulls. *Animal reproduction science*, 95(1-2), 27-37.
- Garner, D. L., & Hafez, E. S. E. (2000). Spermatozoa and seminal plasma. *Reproduction in farm animals*, 96-109.
- Gunawan, I., Laksmi, D., Trilaksana, I., (2012). Efektivitas penambahan β -karoten dan glutathion pada bahan pengencer terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa pada semen beku sapi. *Indonesia Medicus Veterinus*, 1(3), 385-393.
- Gunawan, M., Kaiin, E. M., Mudita, G. S., & Chaidir, R. R. A. (2020, April). Soybean phospholipids-based extender as an alternative for bull sperm cryopreservation. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 478, No. 1, p. 012014). IOP Publishing.
- Husin, N., Suteky, T., & Kususiyah, K. (2007). Uji kualitas semen kambing nubian dan peranakannya (Kambing Nubian X PE) serta kambing Boer berdasarkan lama penyimpanan. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 2(2), 57-64.
- Inonie, R. I., Baa, L. O., & Saili, T. (2016). Kualitas spermatozoa Kambing Boerawa dan Kambing Kacang pada penggunaan tris-kuning telur yang berbeda. *Jitro*, 3(1), 52-64.
- Ismaya. (2014). Bioteknologi inseminasi buatan pada sapi dan kerbau. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. ISBN: 979-420- 848-5.
- Ihsan, M. N. (1992). Diklat inseminasi buatan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Kameni, S. L., Meutchieye, F., & Ngoula, F. (2021). Liquid storage of ram semen: associated damages and improvement. *Open Journal of Animal Sciences*, 11(3), 473-500.

- Kumar, U., Gawande, A. P., Sahatpure, S. K., Patil, M. S., Lakde, C. K., Bonde, S. W., & Ramteke, B. R. (2015). Assessment of semen quality in pure and crossbred Jersey bulls. *Veterinary World*, 8(10), 1266.
- Kulaksız, R., Cebi, C., Akcay, E., & Daskın, A. (2010). The protective effect of egg yolk from different avian species during the cryopreservation of Karayaka ram semen. *Small ruminant research*, 88(1), 12-15.
- Kusumawati, E. D. (2022). *Sexing Spermatozoa Pada Kambing*. Media Nusa Creative (MNC Publishing).
- Komariah K, Arifiantini L, Nugraha FW. (2013). Kaji banding kualitas spermatozoa sapi Simmental, Limousin, dan Friesian Holstein terhadap proses pembekuan. *Buletin Peternakan* 37(3): 143.
- Leyn, M. F., Belli, H., Nalley, W. M., Kune, P., & Hine, T. M. (2021). Spermatozoa quality of bligon goat in tris-egg yolk diluent added with various levels of dragon fruit peel extract. *Jurnal Nukleus Peternakan*, 8(1), 23-32.
- Maxwell, W. M. C., & Watson, P. F. (1996). Recent progress in the preservation of ram semen. *Animal Reproduction Science*, 42(1-4), 55-65.
- Marlia. (2011). Hubungan ukuran tubuh dengan bobot badan sapi simmental di PT lembu betina subur kota Sawahlunto. Skripsi. Fakultas Peternakan Universitas Andalas. Padang.
- Manjunath, P. (2018). New insights into the understanding of the mechanism of sperm protection by extender components. *Animal Reproduction (AR)*, 9(4), 809-815.
- Maulida, A. N. (2014). Evaluasi Post Thawing Motility (PTM) pada Semen Beku Sapi Simental Produksi BIB Ungaran. Doctoral dissertation, Fakultas Peternakan & Pertanian Undip.
- Moradpour, F. (2019). A review on animal's semen characteristics: fertility, reproduction and development. *Asian Journal of Advances in Agricultural Research*, 10(2), 1-9.
- Nalley, W. M., Handarini, R., & Purwantara, B. (2007). Viabilitas spermatozoa rusa Timor (*Cervus timorensis*) di dalam pengencer tris kuning telur dengan sumber karbohidrat berbeda yang disimpan pada suhu ruang. *JITV*, 12(4), 311-317.
- Ninchan, B., & Noidee, C. (2021). Optimization of oligofructans production from sugarcane juice fermentation using *Bacillus subtilis* TISTR001. *Agriculture and Natural Resources*, 55(6), 1005-1014.
- Paldusova, M., Kopec, T., Chladek, G., Hasek, M., Machal, L., Falta, D. (2014). The effect of the stable environment and age on the semen production in the Czech Fleckvieh bulls. *Mendel Net*, 178-182.

- Pramono, E., & Tagama, T. R. (2008). Effects of Adding Adenosine Triphosphate to Semen Diluter on Quality of Spermatozoa of Fat-Tailed Sheep. *Animal Production*, 10(3).
- Rizal, M., Herdis, Y., & Maheshwari, H. (2007). Peningkatan kualitas spermatozoa epididimis kerbau belang yang dikriopreservasi dengan beberapa konsentrasi sukrosa. *Jurnal veteriner*, 8(4), 188-193.
- Ridwan, R. (2009). Pengaruh pengencer semen terhadap abnormalitas dan daya tahan hidup spermatozoa kambing lokal pada penyimpanan suhu 5°C. *J. Agroland* 16 (2): 187 – 192.
- Raheja, N., Choudhary, S., Grewal, S., Sharma, N., & Kumar, N. (2018). A review on semen extenders and additives used in cattle and buffalo bull semen preservation. *J. Entomol. Zool. Stud*, 6(3), 239-245.
- Riyadhi, M. (2020). Motilitas dan Daya Hidup Spermatozoa asal Epididimis Sapi Persilangan yang Diencerkan dengan Air Tebu. *Motilitas dan Daya Hidup Spermatozoa Asal Epididimis Sapi Persilangan yang diencerkan dengan Air Tebu*.
- Sarastina, S., Susilawati, T., & Ciptadi, G. (2007). Analisa beberapa parameter motilitas spermatozoa pada berbagai bangsa sapi menggunakan Computer Assisted Semen Analysis (CASA). *Ternak Tropika Journal of Tropical Animal Production*, 6(2), 1-12.
- Salisbury, G. W., Vandemark, N. L., & Djanuar, R. (1985). Fisiologi reproduksi dan inseminasi buatan pada sapi.
- Sitepu, S. A., & Putra, A. (2017). Pengaruh penambahan minyak atsiri kulit Jeruk Manis pada pengencer tris kuning telur terhadap kualitas semen post-thawing Sapi Simmental. *Jurnal Peternakan Indonesia*, 19(3), 149-155.
- Situmorang, P., Setioko, A. R., Sugiarti, T., Lubis, A., Kusumaningrum, D. A., & Sianturi, R. G. (2002). Pengaruh Penambahan Kolesterol Terhadap Daya Hidup Spermatozoa Sapi, Itik dan Entog. In *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*. Bogor (Vol. 30, pp. 236-242).
- Surachman, M., Rizal, M., & Maheshwari, H. (2009). Kualitas semen cair asal epididimis kerbau belang dalam bahan pengencer andromed yang mendapat penambahan sukrosa. *Media Peternakan*, 32(2).
- Susilawati, T. (2013). *Pedoman inseminasi buatan pada ternak*. Universitas Brawijaya Press.
- Susilawati. (2005). *Motilitas dan proses pembentukan semen segar menjadi semen beku*. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya. Malang.
- Susilawati, T. (2011). Tingkat keberhasilan inseminasi buatan dengan kualitas dan deposisi semen yang berbeda pada sapi Peranakan Ongole. *Ternak Tropika Journal of Tropical Animal Production*, 12(2), 15-24.

- Sunami, S., Isnaini, N., & Wahjuningsih, S. (2017). Kualitas semen segar dan recovery rate (RR) sapi Limousin pada musim yang berbeda. *Ternak Tropika Journal of Tropical Animal Production*, 18(1), 36-50.
- Sugiarti, T., Triwulanningsih, E., Situmorang, P., Sianturi, R. G., & Kusumaningrum, D. A. (2004). Penggunaan katalase dalam produksi semen dingin sapi. Pros. In Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor (Vol. 4).
- Sumantri, C., & Gunawan, A. (2016). Penggunaan dimethyl sulfoxide sebagai krioprotektan dalam pembekuan semen ayam kampung. *Jurnal Veteriner* Juni, 17(2), 300-308.
- Sholihati, N., Idi, R., Rasad, S. D., Rizal, M., & Fitriati, M. (2008). Kualitas spermatozoa cauda epididimis sapi peranakan ongole (PO) dalam pengencer susu, tris dan sitrat kuning telur pada penyimpanan 4-50C. *Animal Production*, 10(1), 22-29.
- Sugeng, Y. B. (2003). Sapi potong. Penebar Swadaya.
- Souhoka, D. F., Matatula, M. J., Mesang-Nalley, W. M., & Rizal, M. (2009). Laktosa mempertahankan daya hidup spermatozoa kambing peranakan etawah yang dipreservasi dengan plasma semen domba priangan. *Jurnal Veteriner*, 10(3), 135-142.
- Steel, R. G., & Torrie, J. H. (1993). Prinsip dan prosedur statistika (pendekatan biometrik). Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Tanii, R. Y., Dethan, A. A., & Purwantiningsih, T. I. (2022). Pengaruh pengencer ekstrak air tebu dalam sitrat-kuning telur terhadap viabilitas dan abnormalitas spermatozoa, serta pH semen sapi Bali. *Journal of Tropical Animal Science and Technology*, 4(1), 56-65.
- Toelihere, M. R. (1981). Inseminasi buatan pada ternak. Penerbit Angkasa.
- To'aloh, N., Mubarakati, N. J., & Jayanti, G. E. (2023). Analisis motilitas spermatozoa sebelum dan sesudah pembekuan pada sapi Peranakan Ongole (*Bos Indicus*) di BBIB Singosari Malang. *Journal of Comprehensive Science (JCS)*, 2(5), 1031-1038.
- Yanuarista, W., Setiatin, E. T., & Samsudewa, D. (2022). Pengaruh umur pejantan sapi Simmental terhadap tingkah laku reproduksi, kualitas semen segar dan jumlah produksi semen beku. *Livestock and Animal Research*, 20(1), 38-47.
- Yaghoobi, M., Azizi, M., Mokhtare, A., Javi, F., & Abbaspourrad, A. (2022). Rheotaxis quality index: a new parameter that reveals male mammalian in vivo fertility and low sperm DNA fragmentation. *Lab on a Chip*, 22(8), 1486-1497.
- Swadaya, P. (2000). Pembudidayaan Tebu di Lahan Sawah dan Tegalan. (No Title).

- Yuwanta, T. 2010. Telur dan kualitas telur. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Yasin, M. (2022). Evaluasi Nutrisi Pakan Sapi Simmental Di Pt Adi Boga Cipta Semarang (Doctoral dissertation, Politeknik Negeri Jember).
- Yendraliza. (2008). Inseminasi buatan pada ternak. SUSKA press. Pekanbaru.
- Yildiz, C., Kaya, A., Aksoy, M., & Tekeli, T. (2000). Influence of sugar supplementation of the extender on motility, viability and acrosomal integrity of dog spermatozoa during freezing. *Theriogenology*, 54(4), 579-585.
- Zulfan, M. (2008). Hubungan antara libido dengan kualitas semen segar pada pejantan Bos taurus (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).

LAMPIRAN

1. Lampiran Analisis Motilitas

Analisis Descriptives Motilitas

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
F0	5	42.0300	2.22425	.99472	39.2682	44.7918
F1	5	45.4760	.70227	.31406	44.6040	46.3480
F2	5	49.5300	.83256	.37233	48.4962	50.5638
F3	5	39.0880	3.95171	1.76726	34.1813	43.9947
F4	5	32.8720	2.90647	1.29981	29.2631	36.4809
Total	25	41.7992	6.20048	1.24010	39.2398	44.3586

Anova

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	801.915	4	200.479	33.195	.000
Within Groups	120.789	20	6.039		
Total	922.703	24			

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
F4	5	32.8720			
F3	5		39.0880		
F0	5		42.0300		
F1	5			45.4760	
F2	5				49.5300
Sig.		1.000	.073	1.000	1.000

2. Lampiran Analisis Viabilitas

Analisis Descriptives Viabilitas

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
F0	5	4474.8000	165.47870	74.00432	4269.3311	4680.2689
F1	5	4914.4000	373.79647	167.16686	4450.2704	5378.5296
F2	5	5164.0000	110.88733	49.59032	5026.3152	5301.6848
F3	5	4178.4000	676.12225	302.37106	3338.8833	5017.9167
F4	5	3575.8000	308.69192	138.05122	3192.5084	3959.0916
Total	25	4461.4800	669.09137	133.81827	4185.2927	4737.6673

Anova

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7817058.240	4	1954264.560	13.352	.000
Within Groups	2927340.000	20	146367.000		
Total	10744398.240	24			

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
F4	5	3575.8000			
F3	5		4178.4000		
F0	5		4474.8000	4474.8000	
F1	5			4914.4000	4914.4000
F2	5				5164.0000
Sig.		1.000	.235	.084	.315

3. Lampiran Analisis Abnormalitas

Analisis Descriptives Abnormalitas

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
F0	5	622.6000	38.08280	17.03115	575.3140	669.8860
F1	5	598.4000	87.60594	39.17857	489.6229	707.1771
F2	5	586.2000	137.02445	61.27920	416.0617	756.3383
F3	5	655.8000	53.67215	24.00292	589.1572	722.4428
F4	5	680.8000	76.39175	34.16343	585.9471	775.6529
Total	25	628.7600	86.00401	17.20080	593.2593	664.2607

Anova

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	31051.760	4	7762.940	1.060	.402
Within Groups	146468.800	20	7323.440		
Total	177520.560	24			

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05
		1
F2	5	586.2000
F1	5	598.4000
F0	5	622.6000
F3	5	655.8000
F4	5	680.8000
Sig.		.131