

SKRIPSI

MOTILITAS DAN PERSENTASE HIDUP SPERMATOZOA SAPI FRIESIAN HOLSTEIN POST THAWING DALAM PENGECER SKIM KUNING TELUR, TRIS KUNING TELUR DAN ANDROMED®



Oleh :

SITI FATIMAH

NIM 060710269

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2011**

**MOTILITAS DAN PERSENTASE HIDUP SPERMATOZOA SAPI FRIESIAN
HOLSTEIN *POST THAWING* DALAM PENGECER SKIM KUNING TELUR,
TRIS KUNING TELUR DAN ANDROMED®**

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

pada

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh

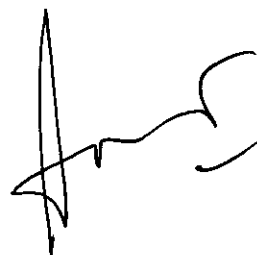
SITI FATIMAH
NIM 060710269

Menyetujui

Komisi Pembimbing,



(R. Budi Utomo, drh, M. Kes.)
Pembimbing Utama



(Indah Norma Triana, drh, M. Si.)
Pembimbing Serta

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi berjudul :

Motilitas dan Persentase Hidup Spermatozoa Sapi Friesian Holstein *Post Thawing* dalam Pengencer Skim Kuning Telur, Tris Kuning Telur, dan AndroMed®

tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, 12 Mei 2011

METERAI
TEMPEL
PALSU BERBAHAYA BAGI NEGARA
TOLAK
0847BAAF420961809
ENAM RIBU RUPIAH
6000
DJP
Siti Fatimah
NIM. 060710269

Telah dinilai pada Seminar Hasil Penelitian

Tanggal : 25 April 2010

KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN

Ketua : Dr. Abdul Samik, drh, M.Si.
Sekretaris : Dr. Pudji Srianto, drh, M. Kes.
Anggota : Prof. Dr. Wurlina, drh, M. S.
Pembimbing Utama : R. Budi Utomo, drh, M. Kes.
Pembimbing Serta : Indah Norma Triana, drh, M. Si.

Telah diuji pada

Tanggal : 06 Mei 2011

KOMISI PENGUJI SKRIPSI

Ketua : Dr. Abdul Samik, drh., M. Si

Anggota : Dr. Pudji Srianto, drh., M. Kes.

Prof. Dr. Wurlina, drh., M. S.

R. Budi utomo, drh., M. Kes.

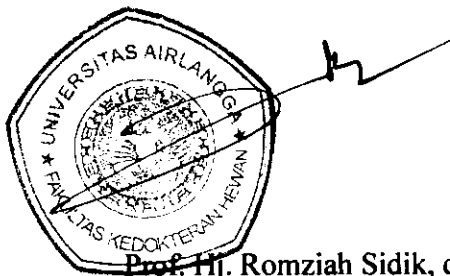
Indah Norma Triana, drh., M. Si.

Surabaya, 12 Mei 2011

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,



Prof. Hj. Romziah Sidik, drh., Ph.D.
NIP. 195312161978062001

**MOTILITY AND LIFE PERCENTAGE OF FRIESIAN HOLSTEIN
BULL'S *POST THAWING* SPERMS IN EGG YOLK SKIM,
EGG YOLK TRIS AND ANDROMED® EXTENDERS**

Siti Fatimah

ABSTRACT

This research was aimed to determine motility and life percentage of Friesian Holstein bull's *post thawing* sperms in egg yolk skim, egg yolk tris and AndroMed® extenders. This research used Friesian Holstein bull's fresh semen that collected in artificial vagina and divided to three treatments. The first treatment (P1) was semen and egg yolk skim. The second treatment (P2) was semen and egg yolk tris extender. The third treatment (P3) was semen and AndroMed® extender. The data was analyzed by ANAVA (Analysis of Variant) and the result showed that three diluters had no significant difference between three treatment ($P > 0,05$). That three treatments were capable to maintain the motility and life percentage of sperms.

Keyword : Motility, Friesian Holstein Bull's, Egg yolk, Tris, AndroMed®

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas karunia yang telah dilimpahkan sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi dengan judul **Motilitas dan Persentase Hidup Spermatozoa Sapi Friesian Holstein Post Thawing dalam Pengencer Skim Kuning telur, Tris Kuning Telur dan AndroMed®.**

Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Prof. Hj. Romziah Sidik, drh., Ph.D. atas kesempatannya mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

R. Budi Utomo, drh., M. Kes., selaku pembimbing pertama dan Indah Norma Triana, drh., M. Si., selaku pembimbing kedua atas saran dan bimbingannya sampai dengan selesainya skripsi ini.

Dr. Abdul Samik, drh, M.Si., selaku ketua penguji, Dr. Pudji Srianto, drh., M.Kes. selaku sekretaris penguji dan Prof. Dr. Wurlina, drh, M.S., selaku anggota penguji.

Dr. Pudji Srianto, drh., M.Kes. selaku dosen pembimbing penelitian dan Trilas Sardjito.S., drh., M.Si. dan Tri Wahyu Suprayogi, drh., M.Si., selaku dosen pembimbing penelitian di lapangan atas segala arahan, bimbingan dan kesabaran selama penelitian. Yeni Dhamayanti, drh., M. Kes., selaku dosen wali atas bimbingan dan nasihat-nasihat yang membangun selama ini.

I'MHERE sebagai wadah dan penyedia sarana penelitian sehingga program penelitian ini dapat berjalan dengan lancar.

Seluruh Staf pengajar Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya atas wawasan keilmuan selama mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Kedua orangtua serta adik-adik tercinta yang telah memberikan nasihat, motivasi, do'a dan dukungan baik material maupun spiritual dalam penyusunan skripsi ini.

Sahabat-sahabat, Ardini Nurlita RP., Lilla Prita MW., dan Ani Nia N., Yunita W., Dendy W. atas semangat dan dukungan yang telah diberikan sehingga terselesaikan skripsi ini. Teman-teman penelitian seperjuangan Ardianti, Rosida, Citra, Ika, Nancy, Cahya, Mas A'ang, Mbak Intan, Drh Dian Ayu, Drh M. Nor Rahman juga Mas Yuan dan Mas Kholik terima kasih atas kerjasama dan kesabarannya dalam menyelesaikan penelitian ini.

Teman-teman Fakultas Kedokteran Hewan angkatan 2007 dan semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu tetapi sudah membantu dalam penyusunan skripsi ini terima kasih atas kerjasama kalian.

Akhirnya penulis menyadari bahwa makalah ini jauh dari sempurna, untuk itu penulis mengharap kritik dan saran dari pembaca sebagai upaya penyempurnaan makalah ini. Semoga hasil yang dituangkan dalam makalah ini dapat bermanfaat bagi pembaca sekalian.

Surabaya, Mei 2011

Penulis

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--|---------|
| HALAMAN PERNYATAAN | ii |
| HALAMAN IDENTITAS..... | iii |
| ABSTRACT | iv |
| UCAPAN TERIMA KASIH | v |
| DAFTAR ISI | vii |
| DAFTAR TABEL | ix |
| DAFTAR GAMBAR | x |
| DAFTAR LAMPIRAN | xi |
| SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG | xii |
| | |
| BAB 1 PENDAHULUAN | |
| 1.1. Latar Belakang Penelitian..... | 1 |
| 1.2. Perumusan Masalah..... | 3 |
| 1.3. Landasan atau Dasar Teori..... | 4 |
| 1.4. Tujuan Penelitian..... | 6 |
| 1.5. Manfaat Penelitian..... | 6 |
| 1.6. Hipotesis..... | 6 |
| | |
| BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA | |
| 2.1 Sapi Friesian Holstein..... | 7 |
| 2.2 Anatomi Dan Fisiologi Alat Kelamin Jantan..... | 8 |
| 2.3 Spermatogenesis..... | 13 |
| 2.4 Spermatozoa..... | 14 |
| 2.5 Semen Beku | 15 |
| 2.6 Pengencer..... | 18 |
| | |
| BAB 3 MATERI DAN METODE PENELITIAN | |
| 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian..... | 22 |
| 3.2 Materi Penelitian..... | 22 |
| 3.2.1 Sampel Penelitian..... | 22 |
| 3.2.2 Bahan Penelitian..... | 22 |
| 3.2.3 Peralatan Penelitian..... | 22 |
| 3.3 Metode Penelitian..... | 23 |
| 3.3.1 Penampungan Dan Evaluasi Semen..... | 23 |
| 3.3.2 Pembuatan Bahan Pengencer..... | 24 |
| 3.3.3 Proses Pembuatan Semen Beku..... | 24 |
| 3.3.4 Penyimpanan Semen Beku..... | 25 |
| 3.3.5 Pemeriksaan Kualitas Semen Beku <i>Post Thawing</i> .. | 25 |
| 3.4 Variabel Penelitian | 26 |
| 3.5 Peubah yang Diamati..... | 26 |
| 3.6 Rancangan Penelitian..... | 27 |
| 3.7 Analisis Data..... | 27 |
| 3.8 Skema Penelitian | 28 |

| | |
|--|----|
| BAB 4 HASIL PENELITIAN | |
| 4.1 Persentase motilitas progresif spermatozoa <i>post thawing</i> | 29 |
| 4.2 Persentase hidup spermatozoa <i>post thawing</i> | 30 |
| BAB 5 PEMBAHASAN | |
| 5.1 Keadaan awal sampel penelitian | 32 |
| 5.2 Persentase motilitas progresif spermatozoa <i>post thawing</i> | 34 |
| 5.3 Persentase hidup spermatozoa <i>post thawing</i> | 38 |
| BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN | |
| 6.1 Kesimpulan..... | 41 |
| 6.2 Saran..... | 41 |
| RINGKASAN | 42 |
| DAFTAR PUSTAKA | 44 |
| LAMPIRAN | 47 |

DAFTAR TABEL

| Tabel | Halaman |
|--|----------------|
| Tabel 4.1 Rataan dan simpangan baku persentase motilitas progresif Spermatozoa <i>post thawing</i> semen sapi FH | 29 |
| Tabel 4.2 Rataan dan simpangan baku persentase hidup spermatozoa <i>post thawing</i> semen sapi FH | 30 |

DAFTAR GAMBAR

| Gambar | Halaman |
|---|----------------|
| Gambar 2.1 Sapi pejantan Friesian Holstein | 8 |
| Gambar 2.2 Anatomi alat kelamin jantan..... | 12 |
| Gambar 2.4 Morfologi spermatozoa..... | 15 |
| Gambar 4.1 Diagram batang persentase motilitas progresif spermatozoa <i>post thawing</i> sapi FH | 29 |
| Gambar 4.2 Diagram batang persentase hidup spermatozoa <i>post thawing</i> sapi FH | 30 |
| Gambar 4.3 Pemeriksaan mikroskopis hidup-mati spermatozoa dengan pembesaran 400 kali | 31 |

DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran | Halaman |
|---|----------------|
| 1. Pembuatan bahan pengencer skim kuning telur..... | 47 |
| 2. Pembuatan bahan pengencer tris kuning telur..... | 49 |
| 3. Pembuatan bahan pengencer AndroMed®..... | 51 |
| 4. Komposisi Eosin-Negrosin..... | 53 |
| 5. Prosedur pemeriksaan <i>post thawing motility</i> | 54 |
| 6. Cara membuat preparat ulas spermatozoa..... | 56 |
| 7. Hasil Pemeriksaan makroskopik dan mikroskopik semen segar | 57 |
| 8. Hasil pemeriksaan mikroskopik <i>prefreezing</i> semen beku | 58 |
| 9. Hasil pemeriksaan <i>post thawing</i> semen beku | 59 |
| 10. Analisis Data | 60 |
| 11. Foto-foto penelitian | 62 |
| 12. Salinan peraturan ditjennak tentang petunjuk teknis dan distribusi semen beku | 64 |

SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

| | |
|----------------|--|
| BBIB | : Balai Besar Inseminasi Buatan |
| BIBD | : Balai Inseminasi Buatan Daerah |
| IB | : Inseminasi Buatan |
| ATP | : Adenosine Tri-Phosphate |
| FSH | : Follicle Stimulating Hormone |
| ICSH | : Interstitial Cell Stimulating Hormone |
| LH | : Luteinizing Hormone |
| pH | : Power of Hydrogen |
| RAL | : Rancangan Acak Lengkap |
| ANAVA | : Analisis of variant |
| BNT | : Beda Nyata Terkecil |
| FKH | : Fakultas Kedokteran Hewan |
| FH | : Friesian Holstein |
| °C | : Derajat Celcius |
| IU | : International Unit |
| Ditjennak | : Direktorat Jendral Produksi Peternakan |
| N ₂ | : Nitrogen |
| USA | : United States of America |

BAB 1

PENDAHULUAN

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Penelitian

Peningkatan mutu ternak merupakan salah satu aspek utama dalam pengembangan peternakan di Indonesia karena usaha peternakan merupakan sektor ekonomi yang penting baik di negara yang beriklim sedang maupun di negara-negara tropis seperti negara kita. Perkembangan teknologi semakin berkembang pesat dewasa ini, tidak ketinggalan perjalanan bioteknologi yang semakin berkembang pesat pula. Salah satunya yaitu teknologi Inseminasi Buatan (IB).

Pendapat tersebut didukung oleh Feradis (2010), yang menyatakan generasi pertama bioteknologi reproduksi peternakan di Indonesia adalah inseminasi buatan (IB). Teknologi ini sampai sekarang masih merupakan teknologi andalan bagi pemerintah untuk meningkatkan mutu genetik pada ternak terutama sapi perah dan sapi potong.

Teknik Inseminasi Buatan (IB) adalah suatu teknologi mutakhir yang diciptakan manusia guna meningkatkan produktivitas dan reproduktivitas ternak untuk mengatasi tuntutan masyarakat dunia yang terus semakin meningkat jumlahnya dari tahun ke tahun (Hardijanto dkk., 2010).

Kini di Indonesia memiliki dua Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) Nasional yang terdapat di Lembang (Jawa Barat) dan Singosari (Jawa Timur). Adanya UU no. 22 tahun 1999 mengenai otonomi daerah yang memberikan kewenangan dalam mengatur dan memajukan daerahnya sendiri tanpa adanya

campur tangan pemerintah pusat, maka pemerintah daerah terpacu dalam mendirikan balai inseminasi buatan skala lokal yang dikenal dengan nama BIBD (Balai Inseminasi Buatan Daerah) seperti di Lampung, Palembang, Padang, Medan, Bali, Jawa Tengah, Kalimantan Selatan dan Blora (Arifiantini, 2004). Dengan adanya BIBD maka terjadi pergeseran fungsi BBIB nasional, selain tetap memproduksi semen beku untuk beberapa daerah yang masih belum memiliki BIBD, juga sebagai pusat bagi pelatihan karyawan yang dikirim dari BIBD yang baru mendirikan. Sebagai daerah yang baru mendirikan BIBD maka dirasa perlu untuk mencari informasi sebanyak-banyaknya tentang jenis pengencer dan teknik yang paling baik untuk memproduksi semen beku (Arifiantini dkk., 2005).

Menurut Toelihere (1993), untuk menghasilkan semen beku yang berkualitas tinggi dibutuhkan bahan pengencer semen yang mampu mempertahankan kualitas spermatozoa selama proses pendinginan, pembekuan, maupun pada saat *thawing*. Kualitas semen sapi dapat diperiksa secara makroskopis dan mikroskopis. Secara makroskopis dilihat dari volume, warna, kekentalan dan derajat keasaman suatu semen. Sedangkan secara mikroskopis merupakan kualitas dari spermatozoa semen sapi ditinjau dari gerakan massa, gerakan individu (motilitas), konsentrasi dan viabilitas (hidup-mati) spermatozoa.

Semen yang tidak diencerkan, sukar mempertahankan hidupnya lebih dari 24 jam, walaupun disimpan dalam suhu rendah. Karena spermatozoa yang senantiasa bergerak aktif, maka cadangan energi di dalam semen yang tidak diencerkan akan cepat habis digunakan. Selain itu semakin meningkatnya kadar asam laktat yang terbentuk makin meningkat derajat keasaman semen yang

bersifat racun terhadap spermatozoa. Karena itu, bahan pengencer semen beku harus mengandung sumber nutrisi, bahan yang bersifat *buffer*, bahan anti *cold shock*, antibiotik, dan krioprotektan yang dapat melindungi spermatozoa selama proses pembekuan dan *thawing*. Setiap jenis pengencer umumnya memiliki komponen yang berbeda sehingga dari setiap pengencer memiliki kemampuan dan cara yang berbeda dalam mendukung kelangsungan hidup spermatozoa (Hardijanto dkk, 2010).

Dewasa ini telah dikenal beberapa macam pengencer semen yang sudah sering digunakan di Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) baik di dalam maupun di luar negeri. Pengencer-pengencer tersebut berupa : pengencer tris kuning telur yang biasa digunakan di BBIB Singosari, Natrium Sitrat, susu skim kuning telur selain digunakan di BBIB lembang juga digunakan oleh FKH Universitas Airlangga, susu segar, laktosa, dan beberapa merek dagang pengencer komersial (siapa pakai), seperti Biladyl, Triladyl, Laiciphos, Biociphos plus dan AndroMed®.

Berdasarkan latar belakang di atas, peneliti ingin mengetahui apakah ada perbedaan kualitas spermatozoa *post thawing* dalam pengencer skim kuning telur, tris kuning telur dan AndroMed®.

1.2. Perumusan Masalah

Masalah yang dapat dirumuskan dari penelitian ini :

Apakah terdapat perbedaan motilitas dan persentase hidup spermatozoa sapi FH *post thawing* yang menggunakan pengencer skim kuning telur, tris kuning telur dan AndroMed® ?

1.3. Landasan atau Dasar Teori

Semen beku (*frozen semen*) memiliki pengertian sebagai semen yang disimpan pada suhu di bawah titik beku antara -79°C sampai -196°C . Seperti diketahui, jika suatu larutan di dalam air dibekukan, maka pelarutnya akan membeku dan membentuk kristal-kristal es yang tajam. Demikian pula pada semen yang diencerkan, bila dibekukan maka akan terbentuk kristal-kristal es atau terjadi penumpukan elektrolit dan zat-zat lain dalam spermatozoa yang berbahaya atau dapat mematikan (Hardijanto dkk., 2010).

Menurut Smith, kematian spermatozoa terjadi pada suhu kritis antara $-1,5^{\circ}\text{C}$. Sedangkan semen baru akan membeku pada suhu $-0,53^{\circ}\text{C}$ atau sedikit lebih rendah tetapi kristal-kristal es belum terbentuk sempurna. Kristal es akan terbentuk sempurna pada suhu $\pm -1,7^{\circ}\text{C}$. Demi menghindari terbentuknya kristal es dalam proses pembekuan semen, selain menggunakan zat anti kristalisasi maka sebaiknya penurunan suhunya sampai -79°C atau -196°C berlangsung cepat (Hardijanto dkk., 2010).

Pengencer semen banyak macamnya yang beredar di Indonesia, ada yang sering digunakan dalam Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) maupun pengencer komersial yang diperdagangkan. Antara lain pengencer skim kuning telur, Andromed®, Natrium Sitrat, susu skim, susu segar, laktosa, Biladyl, Triladyl, Laiciphos dan Biociphos plus. Tujuan dari pengenceran adalah : 1) untuk meningkatkan volume semen, sehingga dari satu kali ejakulasi semen seekor pejantan memungkinkan untuk menginseminasi beberapa ratus ekor betina. 2)

semen dapat disimpan lama, tanpa mengurangi kesuburannya. 3) memungkinkan pengiriman semen yang tidak terbatas jaraknya (Hardijanto dkk., 2010).

Bahan pengencer semen beku harus mengandung sumber nutrisi, *buffer*, bahan anti *cold shock*, antibiotik, dan krioprotektan yang dapat melindungi spermatozoa selama proses pembekuan dan *thawing*. Sumber nutrisi yang paling banyak digunakan adalah karbohidrat terutama fruktosa yang paling mudah dimetabolisasi oleh spermatozoa (Toelihere, 1993). *Buffer* berfungsi sebagai penyanggah untuk mencegah perubahan pH akibat asam laktat dari hasil metabolisme spermatozoa. *Buffer* yang umum digunakan adalah *tris amino methan* yang mempunyai kemampuan dapat mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit (Ditjennak, 2000).

Proses pengenceran semen, suhu dan lama penyimpanan berperan penting terhadap daya tahan spermatozoa. Pengaruh dingin yang mendadak dapat menimbulkan *cold shock*. Hal tersebut karena cepatnya proses pemecahan Adenosine Tri-Phosphate (ATP) sebagai akibat kebutuhan energi yang mendadak. Akibatnya spermatozoa kehabisan energi, dindingnya bersifat permeabel terhadap beberapa elektrolit atau mineral dan terjadi kerusakan protein intra-seluler. Hal ini dapat dicegah dengan melakukan pendinginan bertahap. Bahan anti *cold shock* yang umum ditambahkan adalah kuning telur atau kacang kedelai yang dapat melindungi spermatozoa pada saat perubahan suhu dari suhu ruang (28°C) pada saat pengolahan ke suhu ekuilibrase (5°C) (Arifantini dan Yusuf , 2004).

1.4. Tujuan Penelitian

Tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah:

Menentukan motilitas dan persentase hidup spermatozoa sapi FH *post thawing* dalam pengencer skim kuning telur, tris kuning telur dan AndroMed®.

1.5. Manfaat Hasil Penelitian

Manfaat dari penelitian ini antara lain, untuk menentukan pengencer yang memberikan kualitas spermatozoa *post thawing* terbaik diantara pengencer skim kuning telur, tris kuning telur dan AndroMed®.

1.6. Hipotesis

Berdasarkan rumusan permasalahan yang ada, maka hipotesis dalam penelitian ini adalah terdapat perbedaan motilitas dan persentase hidup spermatozoa *post thawing* yang menggunakan pengencer skim kuning telur, tris kuning telur dan AndroMed®.

BAB 2
TINJAUAN PUSTAKA

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Sapi Friesian Holstein

Sapi perah yang biasanya ditenakkan di Indonesia adalah sapi Friesian Holstein atau Fries Holland (FH). Merupakan bangsa sapi perah yang paling menonjol dan paling banyak dipakai dalam industri sapi perah. Asal sapi ini dari Propinsi North Holand dan West Friesland di negeri Belanda sebagai daerah yang mempunyai padang rumput bagus. Ciri fisiknya yang menonjol adalah hitam dan putih yang dominan dan sedikit yang berbulu merah dan putih (Blakely and Bade, 1991).

Sapi FH memiliki sifat yang tenang dan jinak sehingga mudah dikuasai. Sapi ini tidak tahan terhadap panas, namun mudah beradaptasi, menghendaki tanah yang datar dan berumput baik serta lambat dewasa. Sapi FH merupakan sapi perah yang berukuran besar. Bangsa perah Holstein mempunyai kemampuan menghasilkan air susu lebih banyak daripada sapi perah lainnya, yaitu mencapai 5892 liter per laktasi dengan kadar lemak 3,7% (Patton *et al.*, 2007).

Syarief dan Sumoprastowo (1985) sependapat dengan hal tersebut yang mengemukakan ciri-ciri sapi FH antara lain warna bulunya belang hitam putih dengan batas yang jelas, dahi, perut dan ambing berwarna putih, bulu kipas ekor berwarna putih, dan keempat kaki dari lutut kebawah berwarna putih. Sapi betina bersifat jinak dan tenang sehingga mudah dikuasai, sedangkan yang jantan agak galak dan ganas. Standar berat badan untuk sapi Holstein betina adalah 1250 pounds (567 kg) dan untuk pejantan berat paling rendah 1800 pounds (816 kg).

Holstein lebih besar dibandingkan dengan sebagian besar ternak yang lain dalam satu breed atau bangsa. Bangsa sapi perah holstein mempunyai kemampuan menghasilkan air susu lebih banyak daripada sapi perah lainnya, yaitu mencapai 5982 liter per laktasi dengan kadar lemak 3,7 %.

Penelitian ini menggunakan sampel pejantan sapi FH di Taman Ternak Pendidikan FKH Universitas Airlangga bernama Demi Jr. Berasal dari balai Embrio Ternak, Cipelang, Bogor. Induk bernama Demi dan bapak T. Tetuko.



Gambar 2.1 Sapi pejantan Fresian Holstein
(Sumber: Koleksi Taman Ternak Pendidikan, 2010)

2.2. Anatomi dan Fisiologi Alat Kelamin Jantan

Feradis (2010) menyatakan dalam bukunya bahwa menurut Toelihere (1993), organ reproduksi hewan jantan dapat dibagi tiga :

- a. organ kelamin primer yaitu gonad jantan yang dinamakan testis atau testiculus.
- b. Sekelompok kelenjar kelamin pelengkap yaitu kelenjar vesikularis, prostat dan cowper dan saluran-saluran yang terdiri dari epididimis dan vas deferen.

- c. Alat kelamin luar yaitu organ kopulatoris atau penis, preputium dan skrotum.

Hal ini juga didukung oleh pendapat yang menyatakan, alat reproduksi sapi jantan terdiri dari sepasang testis sebagai alat reproduksi utama; saluran alat kelamin yang terdiri dari vas eferens, epididimis, vas deferens, ampula dan urethra; kelenjar aksesoris seperti kelenjar vesicular seminalis atau vesicularis, prostat dan bulbourethralis atau cowper; serta alat kelamin luar yaitu penis, preputium dan skrotum (Ismudiono dkk., 2007 dan Poernomo dkk., 2005). Sedangkan Hardijanto dan Hardjopranjoto (1994) serta Hardjopranjoto (1995) membagi alat reproduksi menjadi dua berdasarkan fungsinya yaitu alat kelamin primer berupa testis sebagai penghasil spermatozoa dan hormon reproduksi jantan (androgen), serta alat kelamin sekunder sebagai penghubung testis dengan dunia luar seperti saluran alat kelamin, kelenjar aksesoris dan alat kelamin luar yang berfungsi untuk menyalurkan spermatozoa dan cairan seminal keluar pada waktu ejakulasi.

Menurut Poernomo dkk. (2006) testis sapi berbentuk oval memanjang, sumbu memanjang vertikal di dalam skrotum, kedua testis berukuran sama besar, konsistensi ketat tapi keras serta dapat bergerak bebas ke atas dan ke bawah di dalam skrotum.

Epididimis merupakan saluran reproduksi jantan yang terdiri dari tiga bagian yaitu caput epididimis, corpus epididimis dan cauda epididimis. Epididimis memiliki struktur memanjang yang bertaut rapat dari bagian distal testis sampai bagian anterior testis dan di dalamnya terdapat duktus epididimis

yang berliku-liku. Duktus (vas) deferens merupakan saluran yang menghubungkan cauda epididimis dengan urethra (Ismudiono dkk., 2007).

Vas defferens atau ductus defferens adalah merupakan saluran ber dinding otot tebal, sehingga membentuk seperti tali dan jika diraba terasa kenyal. Saluran tersebut menyalurkan sel spermatozoa dari cauda epididimis ke dalam urethra (Poernomo dkk., 2006). Vas deferens berasal dari epididimis dan berjalan dari titik terendah testis ke atas bersama dengan tali spermaticus melewati cincin inguinalis, di tempat tersebut vas deferens akan memisahkan diri dari pembuluh darah arteri, vena, syaraf dan jaringan lain pada tali spermaticus tersebut. Vas deferens akan masuk ke dalam ruang abdominalis yang mengandung sel epitel yang berjajar hampir lurus, memiliki dua lapisan urat daging yang membujur dan melingkar dan dibungkus oleh selaput peritoneum. Vas deferens mempunyai saraf yang banyak jumlahnya berasal dari plexus pelvis dari sistem saraf simpaticus. Melalui kontraksi dari urat daging licin, vas deferens akan mengejakulasikan air mani yang dikandungnya (Salisbury and van Demark, 1985).

Kelenjar-kelenjar asesoris terdiri dari kelenjar vesicula seminalis, kelenjar prostata dan kelenjar cowpers. Kelenjar vesikula seminalis atau kelenjar vesiculares sekresinya merupakan suatu cairan yang lengket dan berwarna keruh, sekresi tersebut mengandung protein, asam sitrat, fruktosa dan beberapa enzim dalam konsentrasi yang tinggi, kadang-kadang berwarna kuning, karena flavin yang tinggi. Pada sapi pH-nya sekitar 5,7-6,2. Sekresi kelenjar-kelenjar vesiculares membentuk 50 persen dari volume ejakulat normal, ukuran panjang 10-15 cm dan diameter 2-4 cm (Poernomo dkk., 2006). Kedua vesicula seminalis

berada di kedua belah sisi luar dari kelenjar ampula. Kelenjar ini akan melepaskan produksinya ke dalam colliculus seminalis. Panjang kelenjar vesicula seminalis 10 cm atau lebih dengan tebal 2,5 cm atau lebih. Kelenjar ini berbentuk lobulus dan aktif bersekresi, memiliki isi 50 cc atau lebih. Hasil sekresi kelenjar ini mengandung kadar hexosa, fruktosa dan asam sitrat yang tinggi (sampai 1%) (Salisbury and van Demark, 1985).

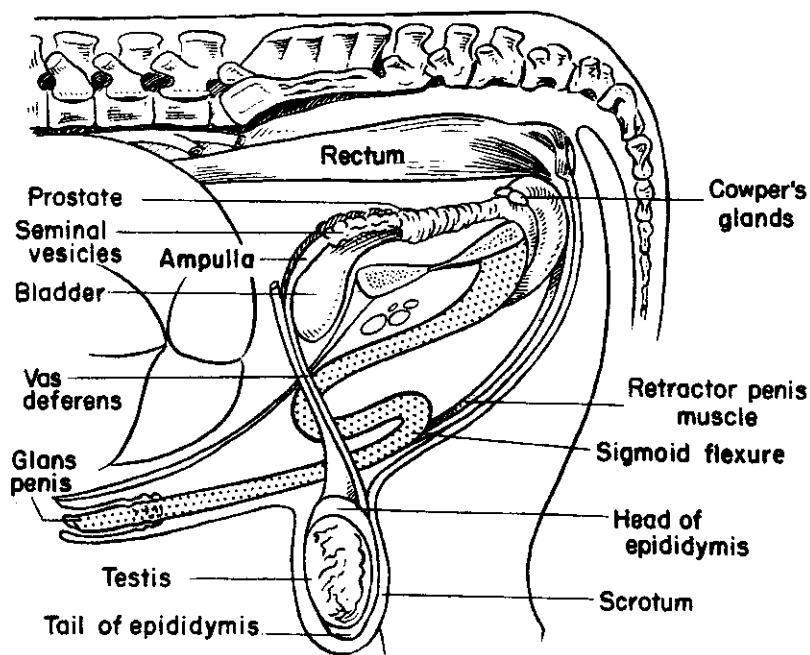
Kelenjar prostata terdiri dari dua bagian yang bersambungan. Tempat dari kelenjar ini berada di sisi dorsal pada tempat pertemuan urethra pelvis dengan leher kandung air kencing, panjangnya kira-kira 3,75 cm, lebar 1,25 cm dan tebal 1,25 cm (Salisbury and van Demark, 1985).

Sepasang kelenjar bulbo-urethralis atau kelenjar cowper terletak di sebelah urethra pelvis, kira-kira 10-12,5 cm di belakang prostat dan sebagian kelenjar tertutup oleh urat daging bulbo-cavernosus. Kelenjar ini terbungkus oleh jaringan serabut yang tebal, berbentuk sedikit lonjong atau bulat telur, berukuran panjang 2,5 cm dan 1,25 cm (Salisbury and van Demark, 1985). Sekresi kelenjar ini berupa lendir dan merupakan cairan semen yang ditumpahkan menjelang ejakulasi, bentuk kelenjar ini bulat, berselubung tebal, kompak dan terletak di atas urethra dekat dengan jalan keluarnya dari cavum pelvis (Poernomo dkk., 2006).

Menurut Poernomo dkk. (2006), sistem reproduksi pada jantan secara anatomik berhubungan dengan saluran pengeluaran urine yang terdiri dari ginjal dan vesica urinaria serta saluran-salurnya, sehingga seluruh sistem ini disebut tractus urogenitalis. Urethra adalah saluran ekskretoris bersama untuk urin dan

semen. Urethra dibedakan atas tiga bagian yaitu bagian pelvis, bulbus urethra dan bagian penis.

Organ kopulatoris pada hewan jantan disebut penis. Penis dibedakan menjadi dua tipe yaitu penis fibroelastik dan kavernosus. Sapi termasuk tipe penis fibroelastik, bagian korpus yang melengkung, disebut flexura sigmoidea atau ansa sigmoidea, relatif lebih kecil, tetapi panjang dan waktu ereksi relatif tidak menjadi besar (Poernomo dkk., 2006). Penis hewan jantan dewasa berukuran panjang 91,4 cm dan bergaris tengah 2,5 cm. Bentuk penis ini silindris dan sedikit menipis dari pangkal penis ke ujung yang bebas. Bagian ujung penis memiliki sedikit sekali jaringan tegang, kecuali bagian pangkal. Penis membesar sedikit pada waktu ereksi dan menjadi lebih tegang. Pada waktu keadaan penis mengendor, penis sapi jantan padat dan keras (Salisbury and van Demark, 1985).



Gambar 2.2 anatomi alat kelamin jantan
(Sumber : Perry, 1973)

2.3. Spermatogenesis

Proses pembentukan spermatozoa disebut spermatogenesis. Proses spermatogenesis terdiri dari dua tahap yaitu spermatositogenesis dan spermiogenesis. Spermatositogenesis merupakan tahapan pertumbuhan jaringan spermatogenik dengan pembelahan sel sederhana dan diikuti oleh pembelahan reduksi yang diakhiri dengan terbentuknya spermatid. Tahap spermiogenesis spermatid akan mengalami metamorfosa bentuknya menjadi spermatozoa yang sempurna. Perubahan-perubahan ini meliputi pembentukan akrosom, kepala, badan dan ekor spermatozoa (Hardijanto dkk., 2010).

Selama proses pendewasaan, sel spermatozoa melekat pada sel sertoli dan selama pertautannya spermatozoa mendapat suplai makanan dari sel tersebut sampai spermatozoa dilepaskan dan masuk ke dalam lumen tubuli dan mengawali perjalanan panjang sel spermatozoa menuju saluran pengeluaran (Salisbury and van Demark, 1985).

Semua proses spermatogenesis diatur oleh sistem kerja hormon gonadotropin yaitu FSH (*Follicle Stimulating Hormone*) yang merangsang pertumbuhan sel-sel spermatogonia dan ICSH (*Interstitial Cell Stimulating Hormone*) yang identik dengan LH (*Luteinizing Hormone*) untuk pembentukan androgen oleh sel leydig. Sedang androgen (*testosteron*) berfungsi mengatur kelakuan seksual hewan jantan dan secara tidak langsung ikut mendukung proses spermatogenesis bersama FSH (Hardijanto dkk., 2010).

2.4. Spermatozoa

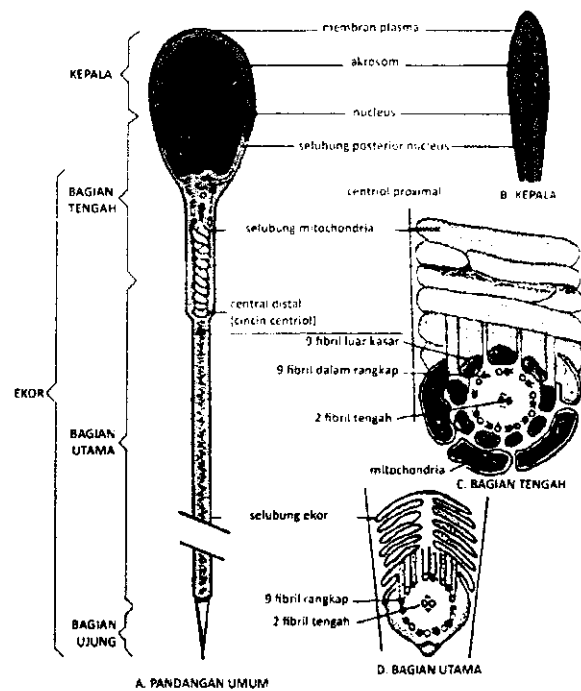
Feradis (2010), berpendapat semen terdiri dari spermatozoa yaitu sel-sel kelamin jantan yang dihasilkan oleh testes dan plasma semen yaitu campuran sekresi yang diproduksi oleh epididimis, kelenjar vesikularis dan prostat. Spermatozoa itu sendiri terdiri dari kepala, yang membawa materi herediternya paternal dan juga ekor, yang mengandung sarana penggerak.

Spermatozoa merupakan sel berukuran kecil, kompak dan sangat khas yang tidak bertumbuh dan membagi diri. Spermatozoa mempunyai struktur yang cukup padat dan tidak mudah terdispersi kecuali membran plasma. Morfologi spermatozoa terdiri dari tiga bagian yaitu bagian kepala, leher dan ekor. Bagian kepala mengandung materi herediternya paternal dan bagian luarnya dibungkus oleh penutup kepala spermatozoa dan di bawahnya terdapat akrosom yang mengandung banyak fosfolipid. Bagian ekor terdiri dari bagian tengah (*middle piece*), bagian utama (*principal piece*) dan bagian ujung (*end piece*) (Hardijanto dkk., 2010).

Hardijanto dkk. (2010) mengemukakan bahwa spermatozoa sapi memiliki panjang kepala 8-10 μ , lebar 4-4,5 μ dan tebal kepala 1,5 μ . Pada bagian tengah (badan) spermatozoa mempunyai panjang 1,5 sampai 2 kali panjang kepala dengan diameter 1 μ . Panjang ekor spermatozoa adalah 35-45 μ dengan diameter 0,4-0,8 μ , sehingga panjang keseluruhan mencapai 50-70 μ .

Setelah dibentuk dalam tubulus seminiferus, spermatozoa akan dikeluarkan melalui saluran reproduksi jantan, yaitu rete testis selanjutnya melalui vas eferen menuju epididimis. Di dalam epididimis spermatozoa mengalami

kapasitasi, kemudian masuk ke vas deferens menuju ampulla vas deferens, spermatozoa akan ditambah dengan cairan asesories. Spermatozoa yang telah bercampur dengan plasma semen disebut sebagai semen, selanjutnya siap diejakulasikan melalui urethra (Bearden and Fuquay, 1992).



Gambar 2.4 Morfologi Spermatozoa
(Sumber :Wu, 1966 disitir Toelihere 1993)

2.5. Semen Beku

Semen beku (*frozen semen*) memiliki pengertian sebagai semen yang disimpan pada suhu di bawah titik beku antara -79°C sampai -196°C . Seperti diketahui, jika suatu larutan di dalam air dibekukan, maka pelarutnya akan membeku dan membentuk kristal-kristal es yang tajam. Demikian pula pada semen yang diencerkan, bila dibekukan maka akan terbentuk kristal-kristal es atau

terjadi penumpukan elektrolit dan zat-zat lain dalam spermatozoa yang berbahaya atau dapat mematikan. (Hardijanto dkk., 2010)

Menurut Smith, kematian spermatozoa terjadi pada suhu kritis antara -1,5°C, semen baru akan membeku pada suhu -0,53°C atau sedikit lebih rendah tetapi kristal-kristal es belum terbentuk sempurna. Kristal es akan terbentuk sempurna pada suhu \pm -1,7°C. Untuk menghindari terbentuknya kristal es dalam proses pembekuan semen, selain menggunakan zat anti kristalisasi maka sebaiknya penurunan suhunya sampai -79°C atau -196°C berlangsung cepat.

Penambahan gliserol ke dalam semen dan cairan pengencer dapat memperendah titik beku cairan. Hal ini berfungsi untuk mencegah terjadinya kristal-kristal es dan menghindari tertimbunnya elektrolit intra-selular di dalam spermatozoa. Daya membuah yang optimum dapat dipertahankan dengan menghambat baik secara fisis atau kimiawi dari semua aktivitas hidup kecuali yang minimal dibutuhkan oleh sel, dalam hal ini proses-proses metabolisme spermatozoa dapat ditekan dengan penurunan suhu dan proses tersebut mudah dipulihkan kembali dengan mengembalikannya pada suhu yang normal. Karena sifat-sifat tersebut maka pengendalian suhu merupakan perlakuan yang sering digunakan untuk mengawetkan spermatozoa pada saat sekarang ini (Hardijanto dkk., 2010).

Kecepatan penurunan suhu sangat berpengaruh terhadap metabolisme dan daya hidup dari sel spermatozoa. Penurunan suhu yang terlalu cepat dapat mengakibatkan "*cold shock*" terhadap spermatozoa dalam cairan semen. Untuk

berhasilnya proses pembekuan semen pada suhu -79°C sampai -196°C , perlu diperhatikan beberapa faktor antara lain : (Hardijanto dkk., 2010)

- a. Banyaknya gliserol yang dipakai di dalam cairan pengencer. Gliserol dalam dosis yang tinggi bersifat racun terhadap kehidupan spermatozoa di samping akan menghambat kerja antibiotik di dalam bahan pengencernya.
- b. Cara penambahan gliserol pada semen agar dijaga kemungkinan terjadinya bahaya osmotik shock. Setiap penambahan harus disertai dengan pengadukan perlahan-lahan dan dilakukan pada suhu yang sama yaitu pada suhu 5°C . Suhu ini harus dipertahankan selama proses pencampuran.
- c. Waktu equilibrasi yaitu waktu memperkenankan sel-sel spermatozoa untuk mengadakan keseimbangan dengan cairan pengencer yang telah ditambah dengan gliserol selama jangka waktu tertentu pada suhu di atas titik beku sebelum proses pembekuan dimulai. Gliserol memasuki kepala spermatozoa untuk menggantikan sebagian dari air yang ada di dalam sel. Dengan demikian kristal-kristal es yang terbentuk di dalam medium pengencer pada waktu pembekuan dapat dicegah sehingga kerusakan mekanis pada spermatozoa dapat dihindari. Gliserol juga berperan untuk mendesak keluar elektrolit-elektrolit, hingga dapat mengurangi konsentrasi elektrolit di dalam sel, sehingga proses penimbunan elektrolit yang sifatnya merusak pada waktu pembekuan dapat dihindari.
- d. Cara pengenceran semen untuk pembekuan. Semen yang baru ditampung dan mempunyai kualitas yang baik setelah pemeriksaan, segera diencerkan 1:4 dengan bahan pengencer yang dipakai. Proses pengenceran harus dilakukan

pada suhu kamar. Besarnya pengencer ditentukan sedemikian rupa sehingga setelah pembekuan dan thawing , jumlah spermatozoa yang hidup (bergerak aktif) sekitar 8-12 juta/ml.

- e. Kecepatan proses pendinginan semen dalam bahan pengencer yang sesuai untuk jarak-jarak suhu yang kritis baik pada waktu penurunan suhu maupun pada suhu penyimpanan.

2.6. Pengencer

Pemakaian pengencer dalam pembekuan bertujuan untuk mengurangi aktivitas sel spermatozoa sehingga menghambat pemakaian energi dan dapat memperpanjang hidup sel spermatozoa. Berkurangnya aktivitas sel spermatozoa menyebabkan produksi asam laktat berkurang sehingga penurunan pH menjadi terhambat. Kadar asam laktat yang berkurang akan mengurangi pengaruh negatif terhadap sel spermatozoa (Hardjopranto, 1995).

Syarat-syarat bahan pengencer yang baik diantaranya mengandung zat-zat makanan sebagai sumber energi bagi spermatozoa, memiliki lipoprotein (lesitin) untuk melindungi terhadap kejutan dingin, bebas dari kuman, sebagai buffer atau penyangga untuk mencegah perubahan pH, mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit, memperbanyak volume air mani dan isotonis (Partodiharjo, 1992).

Karena itu, bahan pengencer semen beku harus mengandung sumber nutrisi, *buffer*, bahan anti *cold shock*, antibiotik, dan krioprotektan yang dapat melindungi spermatozoa selama proses pembekuan dan *thawing*. Sumber nutrisi

yang paling banyak digunakan adalah karbohidrat terutama fruktosa yang paling mudah dimetabolisasi oleh spermatozoa (Toelihere, 1993). *Buffer* berfungsi sebagai penyanggah untuk mencegah perubahan pH akibat asam laktat dari hasil metabolisme spermatozoa. *Buffer* yang umum digunakan adalah *tris amino methan* yang mempunyai kemampuan dapat mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit (Ditjennak, 2000).

Pada dasarnya bahan-bahan yang digunakan dalam menyusun suatu pengencer semen ditetapkan berdasarkan hasil pengetahuan tentang komponen-komponen (senyawa-senyawa kimia) penyusun plasma semen. Sebagai sumber energi digunakan karbohidrat seperti glukosa, fruktosa dan lain-lain. Untuk mencegah cold shock, digunakan kuning telur yang mengandung lipoprotein berupa lesitin (fosfatidil kolin). Bahan-bahan kimia seperti tris, fosfat dan asam sitrat berfungsi sebagai zat penyangga sedangkan untuk mencegah perkembangan mikroorganisme umumnya digunakan antibiotic berupa penisilin dan streptomisin. Dalam proses pembuatan semen beku, pengencer harus ditambahkan senyawa krioprotektan yang umumnya berupa gliserol. Dewasa ini untuk lebih meningkatkan kualitas semen yang dipreservasi dan dikriopreservasi, pengencer semen ditambahkan dengan zat-zat aditif lainnya, berupa senyawa antioksidan, seperti vitamin C (asam askorbat), vitamin E (tokoferol), beta karoten, butylated hydroxy toluence (BHT), glutation dan lain-lain (Rizal dan Herdis, 2008).

Pengencer skim kuning telur merupakan pengencer organik yang mengandung bahan anti *cold shock* yang dapat melindungi spermatozoa pada saat perubahan suhu dari suhu ruang (28°C) pada saat pengolahan ke suhu ekuilibrisasi

(5°C) (Arifiantini dan Yusuf, 2004). Hal ini disebabkan pengencer susu mempunyai beberapa keunggulan, diantaranya susu mengandung substansi pelindung lesitin yang berfungsi melindungi spermatozoa terhadap cekaman dingin selama proses pembekuan (Toelihere et al., 1998). Penggunaan Susu skim lebih disukai karena terdapat hanya sedikit butir-butir lemak yang dapat menghambat pemeriksaan dengan mikroskop (Feradis, 2010).

Pengencer tris kuning telur telah sangat umum digunakan dalam proses pembuatan semen beku berbagai jenis hewan dan ternak. Pengencer tris kuning telur tersusun atas : tris, asam sitrat, fruktosa, kuning telur, antibiotic, gliserol dan aquabidestilata. Salah satu komposisi di dalamnya yaitu *tris amino methan* merupakan *buffer* dan dapat mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit. Asam sitrat selain juga berfungsi sebagai *buffer* mempunyai fungsi untuk mendispersikan butir-butir lemak kuning telur. Fruktosa berfungsi menyediakan zat-zat makanan sebagai sumber energi bagi spermatozoa. Kuning telur mempunyai fungsi selain sebagai *buffer* dan sumber energi juga sebagai krioprotektan. Antibiotik berfungsi untuk mencegah pertumbuhan mikroorganisme, sedangkan gliserol untuk melindungi sperma terhadap efek *lethal* pada saat pembekuan (Ditjennak, 2000).

Dewasa ini terdapat banyak pilihan pengencer komersial yang diproduksi oleh beberapa perusahaan dengan berbagai merek dagang, seperti Biladyl, Triladyl, Biociphos plus, Laiciphos, dan AndroMed®. Menurut Rizal dan Herdis, (2008) dalam bukunya menyatakan bahan-bahan untuk menyusun pengencer-pengencer komersial tersebut terdiri atas bahan-bahan yang sudah lazim dipakai

dalam menyusun pengencer semen. Hanya saja beberapa pengencer tersebut seperti AndroMed® tidak menggunakan kuning telur ayam karena dikhawatirkan kuning telur ayam tersebut menjadi media penyebaran berbagai macam kuman penyakit menular. Sebagai pengganti kuning telur, pada pengencer AndroMed® digunakan ekstrak kedelai (dengan target utama adalah lesitin yang terkandung didalamnya). Pengencer AndroMed® (Minitub Jerman) menggunakan lesitin dari kacang kedelai (KK) (Arifantini dan Yusuf, 2004). Pengencer AndroMed® juga telah mengandung gliserol sehingga tidak perlu lagi ditambahkan senyawa krioprotektan.

BAB 3

MATERI DAN METODE PENELITIAN

BAB 3 MATERI DAN METODE

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Taman Ternak Pendidikan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, desa Tanjung kecamatan Kedamean kabupaten Gresik.

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan September sampai Desember 2010.

3.2. Materi Penelitian

3.2.1. Sampel Penelitian

Sampel penelitian yang digunakan adalah semen sapi dalam keadaan sehat, alat kelamin normal dan libido baik. Sapi yang digunakan adalah satu ekor sapi pejantan Friesian Holstein (FH) dewasa kelamin yang ada di Taman Ternak Pendidikan Universitas Airlangga, Gresik.

3.2.2. Bahan Penelitian

Bahan penelitian meliputi: semen, tiga macam bahan pengencer (pengencer skim kuning telur, tris kuning telur dan Andromed®), larutan pewarna eosin-negrosin, nitrogen cair dalam container, air hangat (37°C), alkohol 70%, aquadest dan aquabidest.

3.2.3. Peralatan Penelitian

Alat-alat penelitian meliputi : kandang penjepit, vagina buatan, tabung penampung semen, thermometer, dan tali handling, kertas catatan, bolpoin, kertas

indikator pH, mikroskop, spektrofotometer, tabung penampung semen, gelas objek, gelas penutup, micropipet, pipet tetes, batang pengaduk gelas, kertas tissue, kapas, lampu spirtus, timbangan analitik kapasitas 100 gram, labu erlenmeyer, beaker glass, gelas ukur, pipet ukur, thermometer, scalpel, lemari es, *cool top*, aluminium foil, rak besi, container gas nitrogen cair, mini straw, *filling* dan *sealing machine*.

3.3. Metode Penelitian

3.3.1. Penampungan dan Evaluasi Semen

Penampungan semen dilakukan dua kali dalam satu minggu pada sore hari menggunakan vagina buatan. Semen yang diperoleh dilakukan pemeriksaan dan evaluasi secara makroskopis dan mikroskopis. Evaluasi secara makroskopis meliputi pemeriksaan volume (ml), konsistensi semen, warna dan derajat keasaman. Pemeriksaan mikroskopis meliputi : gerakan massa; diperiksa dengan meneteskan satu tetes semen segar ke gelas obyek yang bersih dan hangat lalu diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 100 kali. Kriteria penilaian : +++ (3), gerakan massa yang paling baik yang ditandai dengan gelombang besar, banyak, bergerak cepat, dan berpindah-pindah tempat ; ++(2), gerakan massa yang baik ditandai dengan gelombang besar, tipis, jarang, dan bergerak lambat ; + (1), gerakan massa yang kurang baik ditandai dengan gelombang tipis dan sedikit jumlahnya.

Persentase motilitas sperma atau gerakan individu dievaluasi secara subjektif yang dilakukan dengan meneteskan satu tetes semen di atas gelas objek

yang bersih dan hangat, kemudian ditambahkan 4-5 tetes NaCl fisiologis, dihomogenkan dan diambil satu tetes pada objek gelas yang lain dan ditutup dengan gelas penutup. Cara penilaian gerakan individu spermatozoa yang lain berupa kecepatan gerak ialah menggunakan angka 0, bila tidak ada sel spermatozoa yang bergerak atau sedikit; angka 1, bila gerakan spermatozoa lambat; angka 2, bila gerakan spermatozoa sedang; angka 3, bila gerakan cepat; dan angka 4 bila gerakan sel spermatozoa sangat cepat.

Konsentrasi spermatozoa dihitung dengan menggunakan alat yaitu spektrofotometer.

3.3.2. Pembuatan Bahan Pengencer

Tiga bahan pengencer yaitu pengencer skim kuning telur, tris kuning telur dan AndroMed® dibuat pada hari penampungan semen. Cara pembuatan masing-masing pengencer terdapat dalam lampiran.

3.3.3. Proses Pembuatan Semen Beku

a. Proses pengenceran

Semen yang berkualitas tinggi dibagi tiga bagian dan masing-masing dilarutkan dengan pengencer skim kuning telur, tris kuning telur dan Andromed®. Pengenceran dilakukan satu tahap pada temperatur ruang. Semen dilarutkan dengan bahan pengencer secara perlahan lahan tetes demi tetes.

b. Pemeriksaan *before freezing*

Setelah proses pengenceran selesai, maka dilakukan pemeriksaan secara mikroskopis kembali terhadap mortalitan dan motilitas sel

spermatozoa yang bergerak aktif maju ke depan (progresif) dengan nilai minimal 70%.

c. *Proses filling dan sealing*

Proses *filling* dan *sealing* dilakukan dalam cool top yang bersuhu 3-5°C.

d. *Pre freezing*

Straw yang telah dikemas disusun di atas rak, kemudian diletakkan di atas N₂ cair (± 1 cm di atas permukaan N₂ cair), dalam container, processing sampai suhunya mencapai -140°C, membutuhkan waktu 9 menit.

e. *Freezing* (pembekuan)

Setelah *pre freezing*, segera straw dimasukkan ke dalam goblet dan direndam dalam N₂ cair (-196°C) dalam *storage container* (Ditjennak, 2000).

3.3.4. Penyimpanan Semen Beku

Semen beku disimpan pada *storage container* dalam rendaman N₂ cair.

3.3.5. Pemeriksaan Kualitas Semen Beku *Post Thawing*

Pemeriksaan kualitas semen beku *post thawing* terdiri dari pemeriksaan *post thawing* motility dan persentase hidup spermatozoa. Standar minimal *post thawing* untuk sapi persentase hidup 40 % dengan gerakan sperma 3 ditulis 40/3 dapat dipertimbangkan bila 40/2 (Ditjennak, 2000). Cara pemeriksaan *post thawing motility* dapat dilihat di lampiran.

Pemeriksaan persentase hidup *post thawing* spermatozoa menggunakan metode preparat ulas dengan pewarnaan eosin-negrosin (terlampir).

3.4. Variabel Penelitian

Penelitian ini menggunakan variabel-variabel yang terdiri dari tiga variabel yaitu :

1. variabel bebas yaitu tiga macam pengencer yang digunakan (skim kuning telur, tris kuning telur dan AndroMed®).
2. variabel tergantung yaitu persentase motilitas progresif dan persentase hidup spermatozoa *post thawing*.
3. variabel kontrol berupa spesies hewan, jenis kelamin, umur, kondisi fisik hewan, suhu ruang penelitian dan pembekuan, lama proses pembekuan.

3.5. Peubah yang Diamati

Peubah yang diamati dalam penelitian ini adalah kualitas berupa gerakan individu yaitu motilitas dan persentase hidup spermatozoa *post thawing* dari pejantan sapi FH yang sama dalam pengencer skim kuning telur, tris kuning telur dan Andromed®.

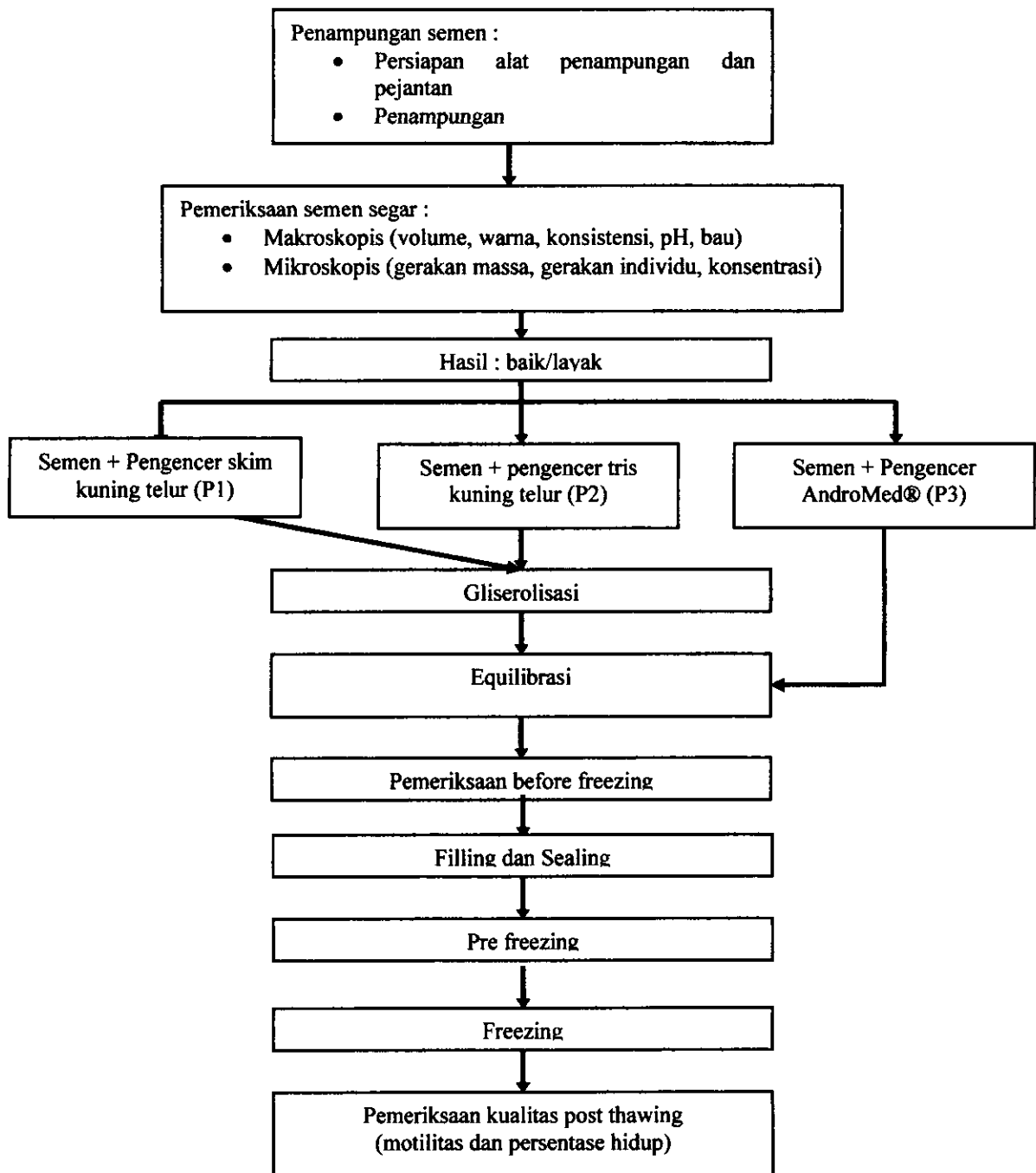
3.6. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) (Kusriningrum, 2008). Menggunakan tiga macam perlakuan sehingga didapatkan ulangan minimal enam kali ulangan.

3.7. Analisis Data

Data yang diperoleh disusun dalam satu tabel, selanjutnya perbedaan pengaruh antar pengencer dilakukan uji ANAVA, bila terdapat perbedaan yang nyata dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) (Kusriningrum, 2008).

3.8. Skema Penelitian



BAB 4

HASIL PENELITIAN

BAB 4 HASIL PENELITIAN

4.1 Persentase motilitas progresif spermatozoa *post thawing*

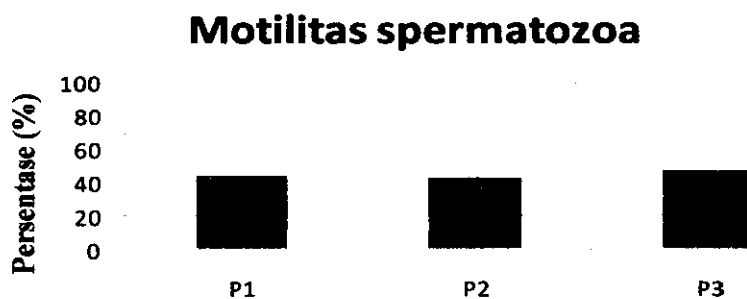
Data tentang persentase motilitas progresif spermatozoa *post thawing* setelah diberi perlakuan berbagai macam pengencer dengan tiga perlakuan : pengencer Skim Kuning Telur (P1), pengencer Tris Kuning Telur (P2) dan pengencer AndroMed® (P3) tercantum dalam tabel 4.1.

Tabel 4.1. Rerata dan Standar Deviasi Persentase Motilitas Progresif Spermatozoa *Post Thawing* Semen Sapi FH

| Perlakuan | Ulangan (n) | Motilitas Spermatozoa (%) (rerata ± standar deviasi) |
|-----------|-------------|---|
| (P1) | 6 | 44,17 ^a ± 10,21 |
| (P2) | 6 | 43,33 ^a ± 8,76 |
| (P3) | 6 | 47,50 ^a ± 10,37 |

Superskrip sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang nyata.

Berdasarkan tabel di atas, diagram batang rerata persentase motilitas spermatozoa *post thawing* dapat dilihat pada gambar berikut ini :



Gambar 4.1 Diagram batang persentase motilitas progresif spermatozoa *post thawing* sapi FH.

Berdasarkan penghitungan dan rata-rata persentase motilitas progresif spermatozoa *post thawing* dengan taraf signifikansi 5% menunjukkan bahwa

rataan persentase motilitas progresif spermatozoa setelah menerima perlakuan pemberian pengencer yang berbeda, memberikan hasil tidak berbeda nyata ($p>0,05$) antara ketiga kelompok perlakuan tersebut.

4.2 Persentase hidup spermatozoa *post thawing*

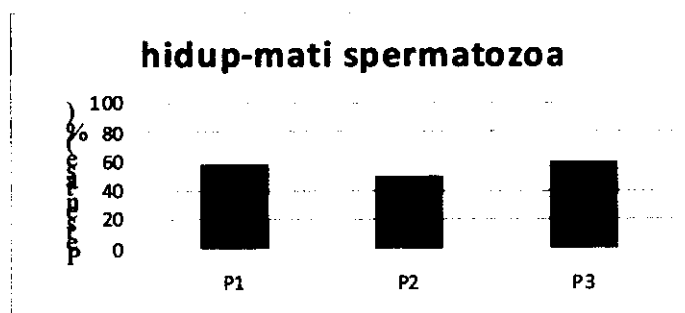
Data tentang persentase hidup spermatozoa *post thawing* setelah diberi perlakuan berbagai macam pengencer dengan tiga perlakuan : pengencer Skim Kuning Telur (P1), pengencer Tris Kuning Telur (P2) dan pengencer AndroMed® (P3) tercantum dalam tabel 4.2.

Tabel 4.2. Rerata dan Standar Deviasi Persentase Hidup Spermatozoa *Post Thawing* Semen Sapi FH

| Perlakuan | Ulangan (n) | Hidup Spermatozoa (%) (rerata \pm standar deviasi) |
|-----------|-------------|---|
| (P1) | 6 | 58,17 ^a \pm 14,36 |
| (P2) | 6 | 50,17 ^a \pm 13,60 |
| (P3) | 6 | 60,33 ^a \pm 9,58 |

Superskrip sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang nyata.

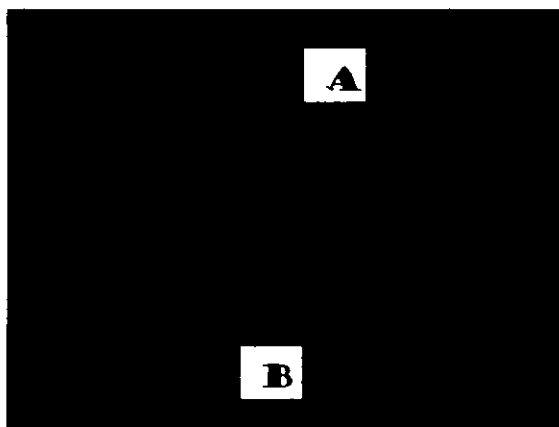
Nilai persentase dari ketiga perlakuan disajikan dalam diagram batang untuk menentukan perbedaan antara tiga perlakuan tersebut pada gambar 4.2.



Gambar 4.2. Diagram batang persentase hidup spermatozoa *post thawing* sapi FH

Setelah dilakukan analisis statistik dengan menggunakan ANAVA satu arah terhadap rataan persentase hidup spermatozoa *post thawing* menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang nyata ($p > 0,05$) pada persentase hidup spermatozoa akibat perbedaan pengencer.

Gambaran spermatozoa hidup dan yang mati dapat dilihat pada gambar 4.3 yang telah diwarnai menggunakan pewarna eosin-negrosin.



Gambar 4.3. Pemeriksaan mikroskop hidup-mati spermatozoa dengan pembesaran 10x40

Keterangan :

A : Spermatozoa hidup (tidak berwarna)

B : Spermatozoa mati (terwarna)

BAB 5

PEMBAHASAN

BAB 5 PEMBAHASAN

5.1 Keadaan awal sampel penelitian

Penelitian ini, sampel yang digunakan adalah semen sapi FH yang diberi tiga perlakuan dengan pemberian pengencer yang berbeda yaitu P1 : sampel dengan pengencer skim kuning telur, P2 : sampel dengan pengencer tris kuning telur dan P3 : sampel dengan pengencer AndroMed®. Setelah dilakukan penambahan pengencer masing-masing dilakukan proses pembekuan dan dilakukan pemeriksaan kualitas *post thawing* yang meliputi pemeriksaan motilitas progresif dan persentase hidup spermatozoa sebagai pemeriksaan awal sebelum dilakukan inseminasi buatan.

Pengambilan sampel menggunakan metode vagina buatan yang merupakan salah satu metode penampungan semen, sedangkan metode lainnya yaitu : *message ampula* dan elektroejakulator. Sampel semen yang didapat pada penelitian ini berupa semen dengan volume yang berkisar antara 9-14 ml, warna kuning dengan rata-rata motilitas 80%. Berdasarkan hasil pemeriksaan tersebut, maka sampel dapat diproses lebih lanjut karena semen normal pada sapi berwarna putih susu sampai kekuningan, volume rata-rata 5-8 ml (1-15 ml) dengan motilitas minimal 65% (Toelihere, 1993). Semen segar yang diproses menjadi semen beku ialah semen dengan nilai gerakan massa minimal ++(2) dan minimal 70% spermatozoa bergerak aktif ke depan atau progresif (Ditjennak, 2000).

Pemeriksaan semen segar meliputi pengamatan terhadap gambaran keseluruhan contoh semen, volume, konsentrasi sel dan motilitas. Pengamatan ini

penting untuk melengkapi penafsiran secara kasar terhadap performa reproduksi sapi jantan tetapi lebih teliti untuk penetapan pengenceran, penanganan dan pengangkutan semen (Salisbury and Van Denmark, 1985).

Gerakan massa adalah gerakan dari beberapa sel spermatozoa bersama-sama sehingga membentuk suatu gelombang, hal ini mencerminkan daya gerak dan konsistensi sel spermatozoa (Feradis, 2010). Gerakan massa merupakan salah satu faktor penting dan kriteria yang paling utama untuk mengindikasikan bahwa semen tersebut dapat diproses lebih lanjut atau tidak (Khrisnamurti, 2005). Gerakan massa hanya dapat dilihat pada awal semen ditampung, sedangkan setelah perlakuan hanya dapat melihat gerakan individual. Sampel yang digunakan memiliki gerakan massa +++ (positif 3), hal ini sampel dinilai baik atau layak diproses menjadi semen beku, sesuai dengan yang standar minimum yang disebutkan oleh Ditjennak (2000).

Semen sapi FH yang digunakan sebagai sampel pada penelitian ini berwarna kuning, tetapi hal ini tidak berpengaruh terhadap fertilitasnya karena menurut Feradis (2010), warna semen sapi normal berwarna seperti susu atau krem keputih-putihan dan keruh. Akan tetapi terdapat 10% sapi semennya normal berwarna kekuning-kuningan, hal ini dipengaruhi oleh riboflavin yang dibawa oleh suatu gen autosom resesif dan hal tersebut tidak berpengaruh terhadap fertilitas.

Salah satu patokan penentu paling sederhana dalam penilaian semen untuk IB ialah motilitas spermatozoa. Motilitas atau daya gerak spermatozoa biasanya digunakan sebagai ukuran kesanggupan spermatozoa untuk membuahi sel telur.

Menurut Hardijanto dan Hardjopranto (1994), bahwa pemeriksaan motilitas spermatozoa hendaknya dilakukan pada suhu kamar agar mendapatkan hasil yang optimal mengingat spermatozoa sangat rentan terhadap suhu, lingkungan atau perlakuan buruk. Pendapat tersebut didukung pula oleh Salisbury dan van Denmark (1985) yang menyatakan seluruh pengamatan motilitas harus didasarkan standar kontrol temperatur terutama temperatur tubuh, karena pada temperatur mendekati 5°C sel mani hampir tidak bergerak, bila temperatur mendekati 50 °C sel mani akan mati dengan cepat.

5.2 Persentase motilitas progresif spermatozoa *post thawing*

Hasil pemeriksaan persentase motilitas spermatozoa *post thawing* setelah diberi perlakuan pada tabel 4.1 menunjukkan angka rerata dan standar deviasi berturut-turut adalah P1 sebesar $44,17 \pm 10,21$, P2 sebesar $43,33 \pm 8,76$ dan P3 sebesar $47,50 \pm 10,37$. Hasil pemeriksaan tersebut dianalisis menggunakan uji ANAVA, menunjukkan bahwa F hitung lebih kecil daripada F tabel dengan $P > 0,05$ yang berarti tidak menunjukkan perbedaan yang nyata antar perlakuan I, II maupun III.

Tidak adanya perbedaan yang nyata diantara tiga pengencer disebabkan masing-masing kandungan yang dimiliki bahan pengencer secara umum sama sesuai dengan yang dibutuhkan spermatozoa agar dapat bertahan hidup. Seperti yang disebutkan oleh Hardijanto dkk. (2010), tentang syarat bahan pengencer harus mengandung sumber nutrisi, bahan yang bersifat *buffer*, bahan anti *cold shock*, antibiotik, dan krioprotektan yang dapat melindungi spermatozoa selama

proses pembekuan dan *thawing*. Pengencer skim kuning telur memiliki komposisi antara lain : susu skim, *aquabides*, kuning telur, gliserol, glukosa dan antibiotika. Komposisi pengencer tris kuning telur ialah *tris amino methan*, *citric acid*, laktosa, fruktosa, raffinosa, kuning telur, *penicyllin*, *streptomycin* dan *aquabides*. Pengencer AndroMed® komposisinya yaitu fosfolipid, tris, asam sitrat, gula, antioksidan, *buffer*, gliserol, antibiotik dan *aquabides*. Antibiotik yang digunakan oleh pengencer skim kuning telur dan tris kuning telur sama yaitu *pennicyllin* dan *streptomycin*, sedangkan pengencer AndroMed® berbeda menggunakan *tylosin*, *gentamicin*, *spectinomycin* dan *lincomycin*.

Masing-masing komposisi penyusun bahan pengencer mempunyai fungsi yang berguna untuk kelangsungan hidup spermatozoa. Glukosa, laktosa, fruktosa dan raffinosa yang merupakan karbohidrat berfungsi menyediakan zat-zat makanan sebagai sumber energi bagi spermatozoa. *Buffer* yaitu sebagai penyanggah untuk mencegah perubahan pH akibat asam laktat dari hasil metabolisme spermatozoa, pada pengencer skim kuning telur *buffer* didapat dari susu skim dan *aquabides* sedangkan pengencer tris kuning telur dari *tris amino methan* yang umum digunakan sebagai *buffer*. *Tris amino methan* juga mempunyai kemampuan dapat mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit. Asam sitrat selain juga berfungsi sebagai *buffer* mempunyai fungsi untuk mendispersikan butir-butir lemak kuning telur. Kuning telur mempunyai fungsi selain sebagai *buffer* dan sumber energi juga sebagai krioprotektan. Antibiotik berfungsi untuk mencegah pertumbuhan

mikroorganisme, sedangkan gliserol berfungsi sebagai zat krioprotektan untuk melindungi sperma terhadap efek *lethal* pada saat pembekuan (Ditjennak, 2000).

Motilitas adalah gerak maju ke depan dari spermatozoa secara progresif. Oleh karena tujuan akhir dari pengencer adalah untuk kegiatan inseminasi buatan maka daya gerak spermatozoa secara progresif (maju kedepan) menjadi patokan yang mutlak diperhitungkan. Hal ini berarti sperma yang bergerak berputar-putar atau bergerak di tempat apalagi yang tidak bergerak tidak dijadikan tolok ukur penilaian kualitas semen beku atau semen cair. Artinya parameter motilitas disamping konsentrasi spermatozoa merupakan parameter utama dalam menilai kelayakan semen yang akan digunakan dalam kegiatan IB. Meskipun demikian penilaian terhadap motilitas spermatozoa dapat dilakukan secara subyektif (visual) yakni dengan membandingkan jumlah spermatozoa yang bergerak progresif dengan yang tidak bergerak progresif secara gamblang oleh pemeriksa melalui bantuan mikroskop dan dinyatakan dalam persen (Solihati dan Kune, 2004).

Motilitas spermatozoa disebabkan karena pada fibril-fibril mikro bagian luar, pada ekor spermatozoa terdapat suatu protein yang disebut *dynein*. Protein ini memiliki fungsi sebagai enzim ATP-ase, sehingga mampu merubah ATP hasil metabolisme menjadi AMP dan dua ion Pi anorganik. Ion Pi anorganik memiliki energi yang tinggi sehingga menimbulkan kontraksi pada fibril-fibril mikro dan menghasilkan gerakan berpilin (Lehninger, 1994 dalam Herdis, 2005).

Seperti yang disebutkan Supriatna dan Pasaribu (1992), terjadinya *cold shock* dan terbentuknya kristal-kristal es intraseluler merupakan problem utama dalam proses pembekuan. Kristal-kristal es akan merusak organel spermatozoa

seperti mitokondria dan memutuskan rantai oksidasi sehingga proses metabolisme tidak berlangsung, ATP sebagai sumber energi tidak terbentuk. Adanya gliserol dalam diluter dapat berdifusi ke dalam spermatozoa, gliserol mampu mencegah pengumpulan molekul-molekul H₂O kristalisasi es pada daerah titik beku larutan (Mazur, 1980).

Ketiga perlakuan tersebut memang menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata antar perlakuan, hanya saja setiap pengencer memiliki kandungan masing-masing dalam komponennya. Pengencer skim kuning telur dan tris kuning telur sama-sama memiliki kandungan kuning telur. Target utama yang diharapkan dari kuning telur tersebut adalah lesitin (fosfatidil kolin) yang terkandung di dalamnya. Lesitin kuning telur diharapkan akan melindungi lesitin membran plasma sel spermatozoa dari kerusakan selama proses pengolahan semen, terutama saat pendinginan, pembekuan dan *thawing* semen beku. Lesitin merupakan asam lemak yang dominan untuk menyusun membran plasma sel spermatozoa. Kuning telur memberikan perlindungan terhadap spermatozoa pada suhu rendah tetapi menimbulkan efek toksik pada suhu tinggi. Menurut Glover dan Watson (1987) yang dikutip oleh Rizal dan Herdis (2010) dalam bukunya, efek toksisitas kuning telur ditandai dengan adanya akumulasi hidrogen peroksida yang merupakan sebuah produk spermasid, senyawa yang mampu membunuh spermatozoa, dari asam amino tertentu dan akan menyebabkan kematian spermatozoa.

Pengencer AndroMed® tidak menggunakan kuning telur ayam karena dikhawatirkan kuning telur ayam tersebut menjadi media penyebaran berbagai macam kuman penyakit menular. Sebagai pengganti kuning telur pada pengencer

AndroMed® digunakan ekstrak kedelai dengan target utama lesitin yang terkandung di dalamnya. Pengencer AndroMed® juga telah mengandung gliserol sehingga tidak perlu lagi ditambahkan senyawa krioprotektan dalam pemakaian untuk semen beku, hal ini pula yang membuat waktu equilibrasi pada pengencer AndroMed® hanya satu jam daripada pengencer skim kuning telur dan tris kuning telur yang membutuhkan waktu empat jam untuk waktu equilibrasi karena pada kedua pengencer tersebut masih perlu ditambahkan senyawa krioprotektan yang pada penelitian ini menggunakan gliserol.

5.3 Persentase hidup spermatozoa *post thawing*

Hasil penelitian menunjukkan persentase hidup spermatozoa *post thawing* tidak mengalami perbedaan yang nyata antara masing-masing perlakuan seperti yang tertulis pada tabel 4.2, rerata dan standar deviasinya berturut-turut yaitu P1 $58,17 \pm 14,36$, P2 $50,17 \pm 13,60$ dan P3 $60,33 \pm 9,58$ setelah mendapat perlakuan penambahan pengencer yang berbeda yakni skim kuning telur untuk P1, tris kuning telur untuk P2 dan AndroMed® dengan P3.

Pemeriksaan persentase hidup spermatozoa *post thawing* dengan menghitung jumlah sel spermatozoa yang hidup dari sediaan ulas, misal pada ulangan ketiga untuk pengencer skim kuning telur dari 107 spermatozoa yang diamati ada 46 sel spermatozoa yang hidup atau tidak terwarna, maka besarnya persentase sel spermatozoa hidup dari semen tersebut adalah 43%.

Sama halnya dengan membran plasma sel lainnya, membran plasma spermatozoa tersusun oleh protein dan fosfolipid, pada umumnya sel akan

menggunakan mekanisme tertentu untuk mencegah kerusakan membran yang tidak terkontrol (Mackie *et al.*, 2001). Membran plasma sel memegang peranan penting karena berfungsi menjaga organel-organel sel secara fisik dan mengatur lalu lintas keluar masuk sel seluruh substrat dan elektrolit yang dibutuhkan dalam proses biokimia sel. Adanya penambahan zat krioprotektan ke dalam medium pengencer semen dapat melindungi kerusakan spermatozoa, baik yang dikarenakan efek larutan maupun pembentukan kristal es ekstraseluler dan intraseluler (Herdis, 2005).

Afinitas zat warna antara sel-sel spermatozoa yang mati dan yang hidup digunakan untuk menghitung jumlah spermatozoa hidup secara obyektif pada waktu semen segar dicampur dengan zat warna eosin negrosin. Pada waktu pencampuran sel-sel spermatozoa yang hidup tidak atau sedikit sekali menghisap warna sedangkan sel-sel spermatozoa yang mati akan mengambil warna karena permeabilitas dinding sel meninggi waktu mati (Hafez, 1993). Hal ini sejalan dengan pendapat Bearden dan Fuquay (1997), bahwa zat warna eosin tidak dapat melewati membran sel hidup namun dapat melewati membran sel mati, sehingga sel yang hidup akan terlihat tidak berwarna sedangkan yang mati akan tampak berwarna kemerahan. Hal ini karena spermatozoa yang telah mati tidak terdapat perbedaan potensial ion natrium dan kalium antara di dalam dan di luar sel sehingga eosin negrosin yang berikatan dengan natrium akan mudah berdifusi ke dalam sel spermatozoa dan menunjukkan penyerapan warna pada kepala saat diberi pewarnaan (Achmadi, 2001).

Penurunan persentase hidup spermatozoa *post thawing* disebabkan oleh perbedaan kondisi membran pada saat pembekuan dan proses pencairan kembali. Perubahan ini mengakibatkan peningkatan permeabilitas membran sehingga terjadi lisis dan kematian (Suprayogi, 1996). Pendapat tersebut sesuai dengan Toelihere (1993), yang menyatakan pada proses pembekuan terbentuk kristal-kristal es dan terjadi penumpukan elektrolit dan bahan-bahan terlarut lainnya. Konsentrasi elektrolit yang berlebihan akan melarutkan selubung lipoprotein dinding spermatozoa dan waktu pencairan kembali permeabilitas membran sel akan berubah dan menyebabkan kematian sel. Permukaan spermatozoa dibungkus oleh suatu membrane lipoprotein, apabila spermatozoa mati permeabilitas membran meningkat terutama di daerah pangkal kepala dan hal ini merupakan dasar pewarnaan spermatozoa hidup dan mati.

BAB 6

KESIMPULAN DAN SARAN

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa persentase motilitas dan persentase hidup spermatozoa *post thawing* dalam pengencer skim kuning telur, tris kuning telur dan AndroMed® di atas nilai yang ditentukan oleh Ditjenak sehingga ketiga pengencer tersebut memenuhi standar pengencer yang telah ditetapkan.

6.2 Saran

Pengencer skim kuning telur, tris kuning telur dan AndroMed® bisa digunakan untuk proses semen beku karena ketiganya memberikan hasil yang sama baiknya dalam mempertahankan motilitas dan persentase hidup spermatozoa, tetapi perlu dipertimbangkan juga dari segi ekonomis dan segi kenyamanan inseminator pada saat melakukan inseminasi buatan.

RINGKASAN

RINGKASAN

Siti Fatimah. Motilitas dan persentase hidup spermatozoa sapi Friesian Holstein *post thawing* dalam pengencer skim kuning telur, tris kuning telur dan AndroMed® dengan R. Budi Utomo, drh., M.kes., selaku dosen pembimbing pertama dan Indah Norma Triana. Drh., M.Si., selaku dosen pembimbing kedua.

Teknik Inseminasi Buatan (IB) adalah suatu teknologi mutakhir yang diciptakan manusia guna meningkatkan produktivitas dan reproduktivitas ternak untuk mengatasi tuntutan masyarakat dunia yang terus semakin meningkat jumlahnya dari tahun ke tahun, untuk menghasilkan semen beku yang berkualitas tinggi dibutuhkan bahan pengencer semen yang mampu mempertahankan kualitas spermatozoa selama proses pendinginan, pembekuan, maupun pada saat *thawing*.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kualitas spermatozoa *post thawing* sapi FH dalam pengencer skim kuning telur, tris kuning telur dan AndroMed®. Sampel yang digunakan adalah semen segar sapi Friesian Holstein dewasa kelamin. Semen ditampung dengan menggunakan metode vagina buatan dan dilakukan pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis untuk mengetahui kelayakannya supaya dapat diproses menjadi semen beku. Kemudian semen dibagi menjadi tiga perlakuan yaitu dengan ditambahkan pengencer skim kuning telur (P1), tris kuning telur (P2) dan AndroMed® (P3). Selanjutnya dilakukan proses pembekuan meliputi gliserolisasi, equilibrasi, *filling and sealing*, *prefreezing* dan *freezing*. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan kualitas *post*

thawing dengan parameter motilitas progresif dinyatakan dalam persen dan persentase hidup spermatozoa.

Hasil pemeriksaan didapatkan diantara ketiga pengencer tersebut yaitu skim kuning telur (P1), tris kuning telur (P2) dan AndroMed® tidak terdapat perbedaan yang nyata ($P > 0,005$). Hal ini berarti ketiga pengencer tersebut memenuhi persyaratan yang mengharuskan bahan pengencer semen beku mengandung sumber nutrisi, bahan yang bersifat *buffer*, bahan anti *cold shock*, antibiotik, dan krioprotektan yang dapat melindungi spermatozoa selama proses pembekuan dan *thawing*. Pengencer skim kuning telur memiliki komposisi antara lain : susu skim, *aquabides*, kuning telur, gliserol, glukosa dan antibiotika. Komposisi pengencer tris kuning telur ialah *tris amino methan*, *citric acid*, laktosa, fruktosa, raffinosa, kuning telur, *penicyllin*, *streptomycin* dan *aquabides*, sedangkan pengencer AndroMed® memiliki komposisi yaitu fosfolipid, tris, asam sitrat, gula, antioksidan, *buffer*, gliserol, antibiotik dan *aquabides*.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa persentase motilitas dan persentase hidup spermatozoa *post thawing* dalam pengencer skim kuning telur, tris kuning telur dan AndroMed® di atas nilai yang ditentukan oleh Dirjennak sehingga ketiga pengencer tersebut memenuhi standar pengencer yang telah ditetapkan.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Achmadi, AS., 2001. Kaji banding kualitas dan keutuhan membran plasma semen beku sapi pada setiap tahap jalur distribusi. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor.
- Alfandhi, Y. 2005. Pengaruh Waktu Equilibrasi Gliserol Terhadap Kualitas Sel Spermatozoa Sapi Brahman Dalam Pengencer Tris Kuning Telur Setelah Dibekukan [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Arifiantini, I., T. L. Yusuf dan Yanti D. 2005. Kaji Banding Kualitas Semen Beku Sapi Friesian Holstein Menggunakan Pengencer Dari Berbagai Macam Balai Inseminasi Buatan Di Indonesia. *Animal Production* 7(2): 168-175.
- Arifiantini, Ri. dan TL Yusuf. 2004. Keberhasilan Penggunaan Tiga Pengencer dalam Dua Jenis Kemasan pada Proses Pembekuan Semen Sapi *Frisien holstein*. //http.www.google.com. [30 mei 2010].
- Bearden. I-I.J. and J.W. Fuquay, 1997. *~ z l i e dA nimal' Reproduction*. 4th ed. Mississippi Stge University. New Jersey. Pp. 134-141.
- Blakely J., and D.H. Bade. 1991 Ilmu Peternakan (Edisi Keempat). Penerjemah: Srigandono, B. dan Soedarsono. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Departemen Pertanian Direktorat Jendral Produksi Peternakan. 2000. Prosedur Tetap (Protap) Produksi dan Distribusi Semen Beku. Jakarta : Direktorat Perbibitan.
- Feradis. 2010. Reproduksi Ternak. Alfabeta. Bandung
- Feradis. 2010. Bioteknologi Reproduksi Pada Ternak. Alfabeta. Bandung.
- Hafez, E.S.E., 1993. *Reproduction in Fann Animals*. 6'F ed. Lea and Febiger. Philadelphia.
- Hardijanto., S. Trilas., H. Tatik., S. Suherni., S. Tri. 2009. Penuntun Praktikum Inseminasi Buatan. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Hardijanto., S. Trilas., H. Tatik., S. Suherni., S. Tri. 2010. Buku Ajar Inseminasi Buatan. Airlangga University Press. Surabaya.
- Hardjopranjoto, S. 1995. Ilmu Kemajiran pada Ternak Edisi I. Airlangga University Press. Surabaya.

- Herdis. 2005. Optimalisasi Inseminasi Buatan melalui Aplikasi Ternologi Laserpunktur pada Domba Garut (*Ovis Aries*). [Disertasi]. Institut Pertanian Bogor.
- Ismudiono, Pudji S., Husni A., Sri pantja M., Abdul S., Erma S. 2007. Buku Ajar Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Khrisnamurti, D. 2005. Persentase Motilitas Progresif Dan Persentase Hidup Spermatozoa *Post Thawing* hasil Paparan Sinar Ultraviolet (UV) [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Kusriningrum. 2008. Perancangan Percobaan. Airlangga University Press. Surabaya.
- Lehninger, A.L. 1994. Dasar-Dasar Biokimia., Jilid 2. Terjemahan Thenawijaya M. Erlangga. Jakarta.
- Mackie, A.R.P., P. S. James, S. Ladha and R. Jones. 2001. Diffusion Barriers in Ram and Boar Sperm Plasma Membranes : Directionality of Lipid Diffusion Across The Posterior Ring. Biology Reproduction. Society for The Study of Reproduction, Inc.
- Mazur, P. 1980. Fundamental Aspect of The Freezing of Cells with Emphasis on Mammalian Ova and Embryos. 9th International Congress on Animal Reproduction.
- Nur, F. 2010. Kadar Testosteron Sapi Pejantan Yang Digunakan Untuk Proses Produksi Semen Beku Di Taman Ternak Pendidikan Universitas Airlangga [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Partodihardjo, S. 1992. Ilmu Reproduksi Hewan Edisi Ketiga. Penerbit Mutiara. Jakarta.
- Patton, D. A. Kenny, S. McNamara, J. F. Mee, F. P. O'mara, M. G. Diskin, and J. J. Murphy. 2007. Relationship Among Milk Production, Energy Balance, Plasma Analytes, and Reproduction in Holstein-Friesian Cows. *J. Dairy sci.*
- Poernomo,B., Maslichah M., Widjiati., Epy M., Endang D., dan Akhmad T. 2006. Penuntun Embriologi. Pustaka Melati. Surabaya.
- Rizal, M. dan Herdis. 2008. Inseminasi Buatan Pada Domba. Rineka Cipta. Jakarta.

- Salisbury, G.W. and N.L.van Demark. 1985. Fisiologi dan Inseminasi Buatan pada Sapi (Physiology and Artificial Insemination of Cattle). Diterjemahkan oleh Djanuar. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 200-221.
- Sofiyanti, NM. 2005. Pengaruh Penambahan Vuamin C Dalam Diluter Terhadap Persentase Hidup Dan motilitas Spermatozoa Sapi FH *Post Thawing* [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Solihati, N., Ruhijat Idi, Siti Darojah R., Muh. Rizal, dan maya Fitriati. 2008. Kualitas Spermatozoa Cauda Epididimis Sapi Peranakan Ongol (PO) Dalam pengencer susu, Tris Dan Sitrat Kuning Telur Pada Penyimpanan 4-5° C. *Animal Production* 10(1): 22-29.
- Solihati, N. dan Petrus K. 2004. Pengaruh Jenis Pengencer Terhadap Motilitas Dan Daya Tahan Hidup Spermatozoa Semen Cair Sapi Simmental. Universitas Padjajaran. Bandung.
- Sukaca, I. 2009. Pengaruh Penambahan Fruktosa Ke Dalam Pengencer Anorganik Semen Beku Sapi FH Terhadap Motilitas dan Persentase Hidup Spermatozoa Post Thawing [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Suprayogi, T.W. 1996. Pengaruh Waktu Penyimpanan Bahan Pengencer Kuning Telur Sitrat Terhadap Daya Fertilitas Sel Mani Domba. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Supriatna, I. dan F.H. Pasaribu. 1992. In Vitro Fertilisasi, Transfer Embriodan Pembekuan Embrio. Pusat Antar Universitas. Institut Pertanian Bogor.
- Syarief, M. Z. dan M. Sumoprastowo. 1985. Ternak Perah. CV. Yasaguna. Jakarta.
- Toelihere, M. R., 1981. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Angkasa Bandung. Bandung.
- Toelihere, M. R., 1993. Inseminasi Buatan pada Ternak Cetakan III. Penerbit Angkasa. Bandung.

LAMPIRAN

Lampiran 1

Pembuatan Bahan Pengencer Skim Kuning Telur

Organik (Skim Milk)

- a. Bahan pengencer : susu skim, *aquabides*, antibiotika, kuning telur, glukosa dan gliserol.
- b. Cara membuat
 1. Membuat buffer (untuk 1.000 cc) :
 - Menimbang susu skim 100 gram dan mempersiapkan 960 cc *aquabides*;
 - Masukkan susu skim ke dalam bowling glass 3.000 cc dan tambahkan 960 cc *aquabides*;
 - Mencampur susu skim dan *aquabides* (*buffer*) sampai homogen;
 - Masukkan *bowling glass* ke dalam pemanas *electrothermal* sampai suhu 92°C - 95 °C;
 - Setelah *buffer* suhunya mencapai 92°C, *bowling glass* diangkat dan didinginkan sampai suhunya mencapai 37 °C lalu disaring;
 - Masukkan *buffer* ke dalam tabung (*measuring cylinder*) 1.000cc kemudian disimpan dalam lemari es;
 - Setelah dingin *buffer* ditambahkan antibiotik (*buffer antibiotik*) dengan perbandingan 100 : 1. Antibiotik yang digunakan adalah

Pennicyllin 3 juta IU dan *Streptomycin* 3 gram, dicampur lalu ditambahkan *aquabides* sampai volumenya 30cc.

2. Membuat bahan pengencer A (untuk 1.000 cc) :

- *Buffer* antibiotika : 950 cc
- Kuning telur : 50 cc

3. Membuat bahan pengencer B (untuk 1.000 cc) :

- *Buffer* antibiotika : 770 cc
- Gliserol : 160 cc
- Kuning telur : 50 cc
- Glukosa : 20 gram

Masing-masing pengencer dicampur sampai homogen.

Sumber : Ditjennak (2000)

Lampiran 2

Pembuatan Bahan Pengencer Tris Kuning Telur

(produksi BBIB Singosari)

Bahan pengencer Tris (An-organik) dalam 1.000 ml terdiri dari :

1. Pengencer A

- Tris Amino methan : 13,63 gram
- Citric Acid : 7,62 gram
- Lactosa : 15,00 gram
- Fructose/levulose : 3,75 gram
- Raffinosa : 27,00 gram
- Kuning telur : 200 cc
- Penicyllin : 1 juta IU
- Streptomycin : 1 gram
- Aquabides : 755 ml

2. Pengencer B

Pengencer A + Gliserol 13%

Cara pembuatan :

- Bahan tris amino methan, citric acid, lactosa, fructosa, levulosa, raffinosa, setelah ditimbang dimasukkan ke dalam gelas Erlenmeyer 1.000 cc;
- Ditambah 755 cc aquabidestilata/aquades dan dihomogenkan;

- Kemudian gelas Erlenmeyer dimasukkan ke dalam panci yang berisi air dimasak di atas nyala api;
- Setelah air dalam panci mendidih, gelas Erlenmeyer diangkat dan didinginkan. Bila bahan-bahan dalam gelas Erlenmeyer suhunya turun sampai 30°C, dimasukkan penstrep kemudian dihomogenkan;
- Masukkan kuning telur dan homogenkan selama 15 menit;
- Setelah itu gelas Erlenmeyer yang berisi larutan pengencer tersebut disimpan dalam lemari es dan tahan penyimpanan paling lama 1 minggu;
- Setelah menyimpan 2-3 hari terdapat endapan dari larutan pengencer;
- Bila pengencer akan digunakan, supernatan dipisahkan terlebih dahulu dengan menggunakan pipet.

Sumber : Ditjennak (2000)

Lampiran 3

Pembuatan Bahan Pengencer AndroMed® (Minitub Jerman)

AndroMed® adalah media konsentrat steril untuk diluter tanpa kuning telur untuk ejakulat sapi. Digunakan untuk pembekuan tinggi semen sapi. AndroMed® juga digunakan untuk perlakuan pada semen kambing, caprine dan rusa. Antibiotika yang terkandung di dalamnya sudah sesuai dengan standar EU: EC directive 88/407.

1. Komposisi

- Phospholipids
- TRIS
- Asam sitrat
- Gula
- Antioksidan
- Buffer
- Glycerol
- Antibiotik
- Air

100 cc dari diluter siap pakai mengandung unit inaktif:

- Tylosin 5 mg
- Gentamicin 25 mg
- Spectinomycin 30 mg
- Lincomycin 15 mg

2. Ukuran kemasan

Tiap botol AndroMed® mengandung 200 cc konsentrat untuk memproduksi 1000 cc diluter siap pakai.

Persiapan Untuk Diluter

Untuk persiapan pembuatan diluter, hangatkan isi dari satu botol AndroMed[®] (200 cc) dalam wather bath dengan suhu +35°C . Lalu hangatkan 800 cc air steril pada suhu +35°C dan masukkan ke dalam konsentrat. Amati rasio diluter (1 bagian konsentrat + 4 bagian air), juga dapat disiapkan pada skala kecil.

Proses yang harus diikuti :

- Hangatkan konsentrat AndroMed[®] sebanyak yang dikehendaki pada suhu +35°C dalam wather bath dan masukkan ke dalam silinder steril atau tabung volumetrik yang sesuai ukuran.
- Hangatkan air sebanyak yang dikehendaki pada suhu +35°C dan masukkan ke dalam konsentrat.
- Campur dengan baik dengan mengaduk atau menggunakan pengaduk magnet.

Catatan : untuk mendapatkan diluter semen AndroMed[®] yang optimal, sangat penting untuk memasukkan air dalam jumlah yang tepat ke dalam konsentrat dan tidak sebaliknya.

Sangat penting untuk dilakukan, diluter AndroMed[®] dihangatkan pada suhu +30°C - +32°C.

Lampiran 4**Komposisi Eosin-Negrosin**

Zat warna yang digunakan untuk pembuatan preparat ulas adalah zat warna eosin-negrosin dengan takaran sebagai berikut :

| | | | | | |
|----|-----------|-----|----|-------------|-----|
| R/ | Eosin | 0,2 | R/ | Eosin | 1 |
| | Citras Na | 0,3 | | Negrosin | 5 |
| | Aquadest | 10 | | Citras Na | 3 |
| | | | | Aquades ad. | 100 |

Sumber : Hardijanto dkk. (2009)

Lampiran 5

Prosedur Pemeriksaan *Post Thawing Motility*

1. menyiapkan semua peralatan;
2. Menyiapkan air hangat 37-38°C;
3. Mengambil secara acak *straw, thawing* pada air hangat suhu 37°C selama 15 detik;
4. Mengambil *straw* yang telah di-*thawing*, keringkan dengan tissue kemudian potong kedua ujung *straw* (sumbat laboratorium dan sumbat pabrik) lalu masukkan semen ke dalam tabung tes, aduk pelan-pelan menggunakan *stick glass*;
5. Teteskan satu tetes semen pada *obyek glass* yang telah disiapkan di atas warmer stage dan tutup dengan *cover glass*;
6. Melihat gerakan spermatozoa di bawah mikroskop dengan pembesaran 100x (lensa obyektif 10 x lensa okuler 10);
7. Menghitung prosentase spermatozoa yang masih hidup dengan penilaian antara 0-70% dari minimal 5 bidang pandang. Standar minimal prosentase *Post Thawing Motility* (PTM) untuk sapi 40%.
8. Melihat gerakan individu spermatozoa, dengan nilai sebagai berikut :
 - a. 0 = tidak ada gerakan
 - b. 1 = gerakan lambat
 - c. 2 = gerakan sedang
 - d. 3 = gerakan cepat

Standar minimal untuk sapi prosentase hidup 40 % dengan gerakan sperma 3 ditulis 40/3 dapat dipertimbangkan bila 40/2.

Sumber : Ditjennak (2000).

Lampiran 6**Cara Membuat Preparat Ulas Spermatozoa**

1. Ambil *obyek glass* bersih.
2. Pada *obyek glass* diberikan satu tetes kecil semen dan satu tetes besar larutan Eosin-negrosin di sampingnya.
3. Campurkanlah zat wara itu dengan semen sampai homogen.
4. Buat preparat ulas tipis dan keringkan di atas nyala api (proses ini harus selesai maksimal 15 detik).
5. Lihat di bawah mikroskop dengan pembesaran 400X.

Sumber : Hardijanto dkk. (2009).

Lampiran 7**HASIL PEMERIKSAAN MAKROSKOPIK DAN MIKROSKOPIK SEMEN SEGAR****➤ Pemeriksaan Makroskopis**

| Ulangan | Volume | Konsistensi | Warna | Bau | pH |
|----------------|---------------|--------------------|--------------|------------|-----------|
| 1 | 14 | Sedang | Kuning | Khas | 6-7 |
| 2 | 7,5 | Sedang | Kuning | Khas | 6-7 |
| 3 | 11 | Sedang | Kuning | Khas | 6-7 |
| 4 | 11,9 | Sedang | Kuning | Khas | 6-7 |
| 5 | 9 | Sedang | Kuning | Khas | 6-7 |
| 6 | 9 | Sedang | Kuning | Khas | 6-7 |

➤ Pemeriksaan Mikroskopis

| Ulangan | Gerakan Massa | Motilitas (%) | Kecepatan | Konsentrasi (jt/ml) |
|----------------|----------------------|----------------------|------------------|----------------------------|
| 1 | ++ | 80 | 4 | 897 |
| 2 | +++ | 70 | 2 | 980 |
| 3 | +++ | 90 | 4 | 941 |
| 4 | +++ | 80 | 3 | 667 |
| 5 | +++ | 80 | 3 | 685 |
| 6 | +++ | 90 | 4 | 620 |

Lampiran 8

Pemeriksaan Mikroskopik Prefreezing Semen Beku

| Ulangan | P1 | | | P2 | | | P3 | | |
|---------|---------------|-----------|----------------|---------------|-----------|----------------|---------------|-----------|----------------|
| | Motilitas (%) | Kecepatan | Viabilitas (%) | Motilitas (%) | Kecepatan | Viabilitas (%) | Motilitas (%) | Kecepatan | Viabilitas (%) |
| 1 | 70 | 4 | 86 | 70 | 4 | 83 | 75 | 4 | 87 |
| 2 | 65 | 3 | 71 | 65 | 3 | 71 | 70 | 3 | 80 |
| 3 | 85 | 4 | 89 | 85 | 4 | 87 | 85 | 4 | 91 |
| 4 | 70 | 4- | 83 | 70 | 4- | 82 | 75 | 4+ | 87 |
| 5 | 70 | 4- | 80 | 65 | 4+ | 77 | 70 | 4- | 82 |
| 6 | 80 | 4 | 87 | 85 | 4 | 91 | 80 | 4 | 86 |

Lampiran 9

PEMERIKSAAN POST THAWING SEMEN BEKU

| Ulangan | P1 | | | P2 | | | P3 | | |
|---------|---------------|-----------|----------------|---------------|-----------|----------------|---------------|-----------|----------------|
| | Motilitas (%) | Kecepatan | Viabilitas (%) | Motilitas (%) | Kecepatan | Viabilitas (%) | Motilitas (%) | Kecepatan | Viabilitas (%) |
| 1 | 50 | 3 | 62 | 40 | 3 | 49 | 40 | 3 | 63 |
| 2 | 45 | 3 | 48 | 45 | 3 | 46 | 45 | 3 | 51 |
| 3 | 40 | 3 | 71 | 30 | 3 | 35 | 35 | 3 | 48 |
| 4 | 30 | 3 | 43 | 50 | 2 | 53 | 50 | 3 | 69 |
| 5 | 40 | 2 | 47 | 40 | 3 | 43 | 50 | 3 | 59 |
| 6 | 60 | 3 | 78 | 55 | 3 | 75 | 65 | 3 | 72 |

*Lampiran 10***ANALISIS DATA****Descriptives****Descriptive Statistics**

| | N | Minimum | Maximum | Mean | Std. Deviation |
|--------------------|----|---------|---------|---------|----------------|
| Motilitas | 18 | 30.00 | 65.00 | 45.0000 | 9.39336 |
| Viabilitas | 18 | 35.00 | 78.00 | 56.2222 | 12.73973 |
| Valid N (listwise) | 18 | | | | |

Case Summaries(a)

| | | | Motilitas | Viabilitas | |
|-----------|-------|----------------|----------------|------------|----------|
| Perlakuan | SKT | 1 | 50.00 | 62.00 | |
| | | 2 | 45.00 | 48.00 | |
| | | 3 | 40.00 | 71.00 | |
| | | 4 | 30.00 | 43.00 | |
| | | 5 | 40.00 | 47.00 | |
| | | 6 | 60.00 | 78.00 | |
| | | Total | N | 6 | 6 |
| | | | Mean | 44.1667 | 58.1667 |
| | | | Std. Deviation | 10.20621 | 14.35851 |
| | TRIS | | 1 | 40.00 | 49.00 |
| 2 | | | 45.00 | 46.00 | |
| 3 | | | 30.00 | 35.00 | |
| 4 | | | 50.00 | 53.00 | |
| 5 | | | 40.00 | 43.00 | |
| 6 | | | 55.00 | 75.00 | |
| | | Total | N | 6 | 6 |
| | | | Mean | 43.3333 | 50.1667 |
| | | | Std. Deviation | 8.75595 | 13.60025 |
| ANDROMED | | | 1 | 40.00 | 63.00 |
| | 2 | | 45.00 | 51.00 | |
| | 3 | | 35.00 | 48.00 | |
| | 4 | | 50.00 | 69.00 | |
| | 5 | | 50.00 | 59.00 | |
| | 6 | | 65.00 | 72.00 | |
| | | Total | N | 6 | 6 |
| | | | Mean | 47.5000 | 60.3333 |
| | | | Std. Deviation | 10.36822 | 9.58471 |
| | Total | | N | 18 | 18 |
| | | Mean | 45.0000 | 56.2222 | |
| | | Std. Deviation | 9.39336 | 12.73973 | |

a Limited to first 100 cases.

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

| | | Motilitas | Viabilitas |
|--------------------------|----------------|-----------|------------|
| N | | 18 | 18 |
| Normal Parameters(a,b) | Mean | 45.0000 | 56.2222 |
| | Std. Deviation | 9.39336 | 12.73973 |
| Most Extreme Differences | Absolute | .147 | .159 |
| | Positive | .147 | .159 |
| | Negative | -.131 | -.120 |
| Kolmogorov-Smirnov Z | | .624 | .675 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | | .830 | .753 |

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

| | Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------|------------------|-----|-----|------|
| Motilitas | .042 | 2 | 15 | .959 |
| Viabilitas | .708 | 2 | 15 | .508 |

ANOVA

| | | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|------------|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Motilitas | Between Groups | 58.333 | 2 | 29.167 | .303 | .743 |
| | Within Groups | 1441.667 | 15 | 96.111 | | |
| | Total | 1500.000 | 17 | | | |
| Viabilitas | Between Groups | 344.111 | 2 | 172.056 | 1.069 | .368 |
| | Within Groups | 2415.000 | 15 | 161.000 | | |
| | Total | 2759.111 | 17 | | | |

Lampiran 11

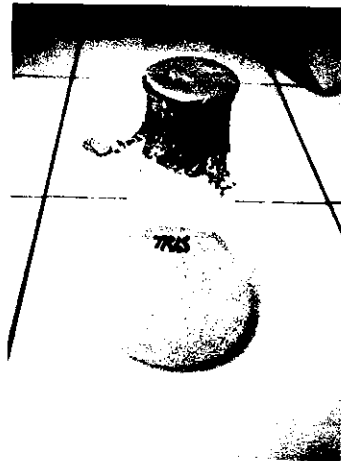
FOTO-FOTO PENELITIAN



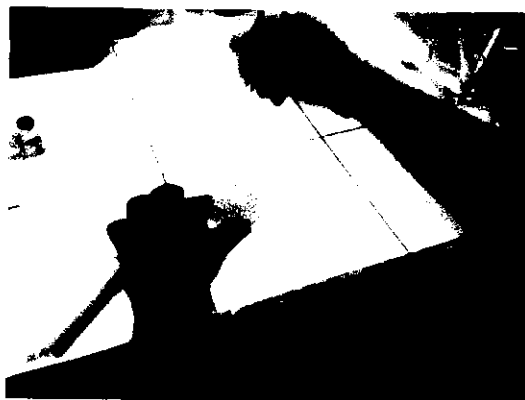
Pengambilan semen sapi FH



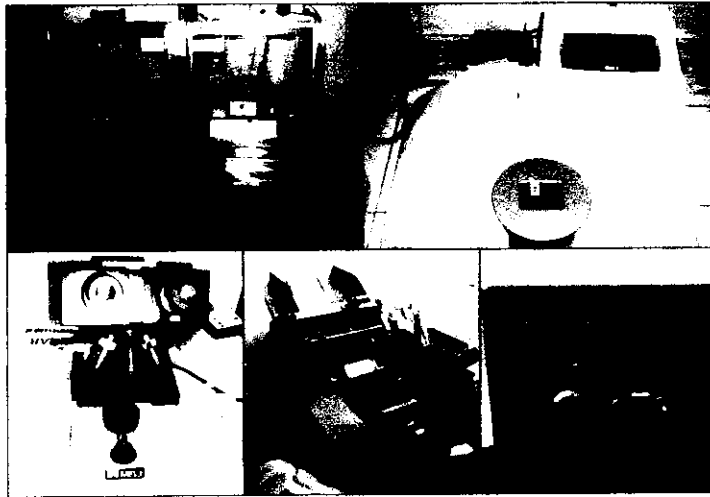
pengencer AndroMed®



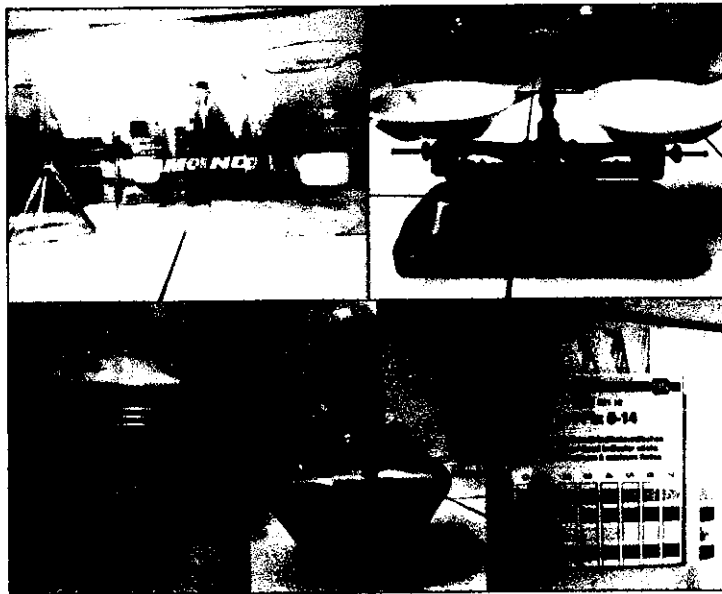
pengencer tris kuning telur



Pembuatan Pengencer Skim Kuning Telur



Peralatan penelitian : *filling and sealing machine*, spektrofotometer, mikroskop, *printing machine*, *water bath*



Peralatan penelitian : beaker glass, timbangan analitik, container gas nitrogen cair, bunsen, kertas indikator pH



LAMPIRAN : PERATURAN DIREKTUR JENDERAL PETERNAKAN

Nomor : 12207/HK.060/F/12/2007

Tanggal : 10 Desember 2007

PETUNJUK TEKNIS PRODUKSI DAN DISTRIBUSI SEMEN BEKU

I. PENDAHULUAN

A. Latar belakang

Dalam rangka mencukupi kebutuhan daging nasional, diperlukan peningkatan populasi ternak terutama ternak sapi dan kerbau melalui penyediaan bibit yang cukup, baik dalam jumlah maupun mutunya.

Salah satu cara yang dilakukan untuk meningkatkan produktivitas ternak adalah melalui penerapan teknologi Inseminasi Buatan (IB), yang selama ini menggunakan semen beku yang berasal dari pejantan unggul yang diproduksi oleh unit pelaksana teknis Direktorat Jenderal Peternakan di Lembang dan Singosari.

Untuk lebih mendekatkan pelayanan produksi semen beku kepada pengguna maka telah dibentuk unit pelaksana teknis produksi semen beku di daerah seperti Balai Inseminasi Buatan Daerah yang diharapkan dapat lebih meningkatkan jangkauan pelayanan Inseminasi Buatan kepada masyarakat peternak sehingga mampu menjadi peserta Inseminasi Buatan swadaya.

Penilaian kualitas semen beku ditingkat produsen dan lapangan dilakukan melalui pemeriksaan semen beku dengan menggunakan metode kualitatif, sehingga akan diperoleh informasi tentang kualitas semen beku yang telah didistribusikan dan teknik penanganan yang dilakukan oleh petugas Inseminasi Buatan.

Agar kegiatan produksi dan distribusi semen beku dapat dilaksanakan secara terarah dan berhasil guna serta mencapai sasaran yang

5



ditetapkan, perlu dibuat Petunjuk Teknis Produksi dan Distribusi Semen Beku.

B. Maksud dan tujuan.

1. Maksud ditetapkan Petunjuk Teknis ini adalah sebagai acuan bagi unit pelaksana teknis di pusat dan daerah yang melakukan kegiatan di bidang produksi dan distribusi semen beku.
2. Tujuan ditetapkannya petunjuk teknis ini adalah agar semen beku yang diproduksi dan didistribusikan memenuhi standar (SNI) 01.4869.1-2005 untuk semen beku sapi dan SNI 01.4869.2-2005 untuk semen beku kerbau), tepat dan terarah.

C. Ruang lingkup.

Ruang lingkup yang diatur dalam petunjuk ini meliputi :

1. Produksi semen beku;
2. Proses produksi semen beku;
3. Teknis distribusi semen beku; dan
4. Pengawasan produksi dan distribusi semen beku.

D. Pengertian.

Dalam Petunjuk Teknis ini yang dimaksud dengan :

1. Produksi semen adalah proses pembuatan semen beku sejak penampungan semen segar sampai dengan semen beku yang siap digunakan dalam kegiatan inseminasi buatan.
2. Distribusi semen adalah proses pengiriman semen dari produsen sampai pengguna sesuai ketentuan.
3. Semen (mari) adalah spermatozoa dan plasma seminalis yang berasal dari pejantan yang dapat digunakan untuk proses pembuahan.
4. Semen beku adalah semen yang berasal dari pejantan unggul yang sehat, bebas dari penyakit hawan menular yang diencerkan sesuai

6

16. Pelugas pengganti contoh adalah pelugas yang memenuhi persyaratan dan ditunjuk oleh pejabat yang berwenang untuk melakukan pengambilan contoh.

II. PRODUKSI SEMEN BEKU

Kegiatan produksi semen beku memerlukan prasarana dan sarana yang harus dipenuhi, meliputi sebagai berikut:

A. Prasarana dan sarana

1. Lahan

Lahan sebagai basis usaha pembibitan untuk bangunan, padang penggembalaan, lapangan exercise dan hijauan makanan ternak. Khusus lahan yang dipergunakan untuk padang penggembalaan dan kebun hijauan makanan ternak harus diperhatikan aspek kesehatan hewan, sumber air serta kesehatan dan kelestarian fungsi lingkungan. Untuk menghindari kemungkinan terjadinya gangguan keamanan terhadap lahan yang dipergunakan, perlu dilakukan langkah-langkah sebagai berikut:

 - a. kepemilikan lahan harus tercatat dan terdokumentasi secara legal;
 - b. melakukan pengamanan dengan membuat pagar permanen disekitar lahan yang dipergunakan sesuai batas kepemilikan;
 - c. memanfaatkan lahan secara optimal sesuai peruntukannya.

2. Bangunan.

Bangunan yang berhubungan langsung dengan proses produksi semen beku antara lain:

- a. kantor;
- b. kandang;
- c. gudang (peralatan dan pakan);
- d. tempat penampungan semen;

8

prosedur proses produksi sehingga menjadi semen beku dan disimpan di dalam rendaman nitrogen cair pada suhu minus (-)196°C dalam kontainer kriogenik.

5. Motilitas spermatozoa adalah gerak maju atau progresif sel-sel spermatozoa.
6. Inseminasi buatan (IB) adalah teknik perkawinan dengan memasukkan mani/semen kedalam alat reproduksi ternak betina sehat untuk dapat membuahi sel telur dengan menggunakan alat inseminasi agar lemak bunting.
7. Pejantan unggul adalah pejantan yang sudah diseleksi berdasarkan garis keturunannya (pedigree/silsilah), kemampuan produksi dan reproduksi.
8. Unit Pelaksana Teknis Pusat/Daerah adalah unit teknis yang mempunyai tugas memproduksi dan mendistribusikan semen beku.
9. Pengujian semen beku adalah proses pengujian yang dilakukan oleh Laboratorium uji mutu yang telah terakreditasi sesuai ISO 17025.
10. Equilibrisasi adalah proses penyesuaian sperma setelah penambahan pengencer dari suhu 3-5°C menuju suhu pree freezing -140°C dan suhu freezing -196°C.
11. Post Thawing Motility adalah pemeriksaan kualitas semen beku segera sesudah dicairkan kembali.
12. Bull Master adalah pelugas yang menguasai teknis pemeliharaan dan perawatan pejantan, kesehatan, pakan, penanganan pejantan dan penampungan semen.
13. Laboran adalah pelugas yang menguasai teknis evaluasi semen, processing semen, penyimpanan semen dan penanganan semen.
14. Rekording adalah kegiatan yang meliputi identifikasi, pencatatan produktifitas, pencatatan silsilah, pencatatan reproduksi dan pencatatan manajemen.
15. Pemuliaan adalah rangkaian kegiatan untuk mengubah komposisi genetik pada sekelompok ternak dari suatu rumpun atau galur guna mencapai tujuan tertentu.

7

- e. laboratorium;
 - f. sumbu bor dan pompa air/instalasi untuk penyediaan air bersih;
 - g. unit pengolahan limbah;
 - h. fasilitas biosekuriti;
- Tata letak bangunan harus didesain sedemikian rupa sehingga memberikan penampilan yang baik, sehat dan ramah lingkungan.
3. Peralatan kantor dan alat telekomunikasi
 4. Alat dan mesin

Alat dan mesin yang digunakan meliputi :

- a. alat pertanian, seperti traktor, chopper dll.;
- b. peralatan kesehatan hewan;
- c. peralatan kandang, seperti tempat pakan, tempat minum;
- d. peralatan laboratorium meliputi : penampungan semen, analisis semen, pengencer semen, printing, prosesing, pengemasan, sterilisasi dan penyimpanan alat;
- e. alat transportasi;
- f. generator;
- g. pompa air;
- h. alat biosekuriti;
- i. peralatan lain (misalnya pemotong kuku, limbah ternak).

B. Pejantan

1. Pejantan yang dipelihara adalah pejantan unggul yang telah lulus uji berasal dari:
 - a. hasil penjarangan ternak;
 - b. pengadaan dari luar negeri;

Penjarangan ternak oleh unit pelaksana teknis di daerah harus mengikuti petunjuk teknis penjarangan yang telah ditetapkan.

2. Persyaratan teknis

Pejantan yang dipelihara harus memenuhi persyaratan sebagai berikut :

- a. memiliki catatan sisitah tetuanya;
- b. terseleksi secara benar dan terarah sebagai pejantan unggul berdasarkan catatan kemampuan produksi, reproduksi dari garis keturunannya;
- c. memenuhi persyaratan kesehatan hewan.

3. Persyaratan reproduksi

Persyaratan reproduksi pejantan adalah telah melalui uji performan dengan hasil :

- a. libido tinggi;
- b. *servability* (kesanggupan melayani/mengawini) tinggi;
- c. lingkas *scrotum* breed/himpun sesuai standar yang ditentukan.

4. Identifikasi pejantan.

Identifikasi pejantan mulai diperlukan untuk pencatatan, pengamatan dan penandaan produksi semen meliputi :

- a. pemasangan identitas pejantan;
- b. data pejantan (nama, kode pejantan), kode pejantan terdiri dari 5-6 digit, 1 smpat dengan 2 digit pertama menandakan kode bangsa, 2 digit tengah menandakan tahun kelahiran pejantan dan 2 digit terakhir menandakan nomor urut pejantan;
- c. buku induk pejantan.

5. Afkir/pengeluaran pejantan.

Pejantan afkir atau dikeluarkan apabila :

- a. telah digunakan selama 6 - 7 tahun;
- b. tidak memenuhi persyaratan sebagai pejantan unggul (tidak produktif);
- c. terkena penyakit hewan menular.



2. Kesehatan Hewan

a. Biosekuriti

Biosekuriti adalah tindakan pengamanan di lingkungan unit pelaksana teknis dari penyakit hewan menular seperti tindakan vaksinasi, sanitasi, surveilans penyakit hewan menular dan pemeriksaan serta pengobatan secara periodik sesuai dengan Petunjuk Teknis Kesehatan Hewan dan Biosekuriti pada UPT Perbibitan.

b. Persyaratan kesehatan hewan

Pejantan yang diperlukan untuk memproduksi semen beku harus memenuhi persyaratan kesehatan hewan sebagai berikut:

- 1) bebas dari endoparasit dan ektoparasit;
- 2) bebas dari penyakit hewan menular, khususnya yang dapat ditularkan melalui semen diantaranya *Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR)*, *Enzootic Bovine Leucosis (EBL)*, *Leptospirosis*, *Brucellosis*, *Tuberculosis*, *Trichomoniasis*, *Vibriosis*, *Paratuberculosis* dan penyakit lainnya sesuai dengan Petunjuk Teknis Kesehatan Hewan dan Biosekuriti pada UPT Perbibitan. Khusus sapi Bali harus bebas dari penyakit *Jembrana/Rama Dewa*.
- 3) bebas dari cacat fisik dan genetik serta kelainan organ reproduksi.

3. Perawatan lemak

Untuk mendukung kesehatan hewan pada lemak pejantan, perlu dilakukan perawatan lemak yang meliputi perawatan kuku, memandikan, *dipping*, pencukuran rambut dan lain-lain.

12



Prosedur afkir (*culling*) sesuai ketentuan yang berlaku dibidang penghapusan barang milik negara/daerah.

C. Pakan dan air minum

Pakan ternak harus tersedia secara cukup sepanjang tahun dan memenuhi persyaratan mutu pakan. Pakan tersebut berupa hijauan melakan ternak (baik segar, olehan maupun kering) dan pakan penguat (konsentrat), termasuk tambahan pakan (*feed additive*) dan pelengkap pakan (*feed suplement*).

Air minum tersedia secara *ad libitum* dan memenuhi persyaratan baku mutu.

D. Obat hewan

Obat hewan yang dipergunakan dapat berupa vitamin, mineral, premix, farmasialik, biologik atau obat alami yang telah memiliki nomor pendaftaran. Penggunaan obat hewan harus dibawah pengawasan dokter hewan dan sesuai dengan ketentuan yang berlaku di bidang obat hewan.

E. Manajemen pemeliharaan

Manajemen pemeliharaan meliputi :

1. Pemberian pakan
 - a. pemberian pakan hijauan kering dapat dilakukan dalam bentuk *hay* atau disertai perlakuan seperti pemberian teles, urea pada jerami, biotik, probiotik, dsb.
 - b. pemberian pakan tambahan berupa : kecambah kacang hijau, ampas tahu dan leguminosa.
 - c. pakan hijauan dan konsentrat harus dibenikan sesuai dengan persyaratan standar mutu dan gizi pakan yang disesuaikan dengan umur dan jenis ternaknya.

11



- d. Kelambatan (kosistensi) : sedang – pekat.
e. Bau : spesifik/normal
2. Pemeriksaan mikroskopis menggunakan mikroskop sbb :
- Gerak massa : sapi minimal 2+, kerbau minimal 1+;
 - Gerak individu : sapi minimal 3, kerbau minimal 2;
 - Motilitas : sapi minimal 70%, kerbau minimal 50 %.
3. Pemeriksaan dan penghitungan konsentrasi dengan menggunakan spectrophotometer, konsentrasi minimal 1000×10^6 spermatozoa per ml.

C. Pengenceran semen segar

Pengenceran semen segar dapat dilakukan dengan menggunakan bahan pengencer organik atau pengencer an-organik, mengikuti ketentuan sebagai berikut:

- Syarat bahan pengencer adalah sebagai berikut :
 - mempunyai sifat isotonic terhadap semen;
 - mempunyai sifat sebagai buffer;
 - dapat melindungi spermatozoa dalam proses pendinginan, pembekuan, dan pencairan kembali;
 - bersifat sumber nutrisi untuk metabolisme spermatozoa;
 - mempunyai efek anti bakteri;
 - menjaga fertilitas spermatozoa;
 - tidak boleh mengandung zat-zat yang bersifat toksik atau racun, baik terhadap spermatozoa maupun terhadap saluran reproduksi ternak betina.
- Cara pengenceran
Pengenceran semen dilakukan dengan mencampurkan semen segar dan bahan pengencer, dengan memperhatikan balasan volume seperti tercantum dalam lampiran petunjuk teknis ini.

14



F. Sumberdaya manusia

Dalam kegiatan produksi dan distribusi semen beku pada unit pelaksana teknis, harus tersedia sumberdaya manusia yang memenuhi kualifikasi sebagai berikut:

- Manajer/pengelola;
- Bull Master;
- Laboran;
- Petugas Rekording;
- Petugas Pemutihan;
- Petugas administrasi, manajemen dan keuangan;
- Tenaga pemasaran produksi semen beku.

III. PROSES PRODUKSI SEMEN BEKU

Untuk memproduksi semen beku, harus dilakukan melalui tahapan sebagai berikut:

A. Penampungan semen segar

Penampungan semen segar meliputi :

- Persiapan yaitu persiapan pejanitan, peralatan, tempat penampungan, vagina buatan, pemancing (teaser);
- Penampungan dilaksanakan oleh collector.

B. Pemeriksaan semen segar (Pengujian I)

Pemeriksaan semen segar dilakukan untuk mengetahui kelayakan semen segar yang akan diproduksi menjadi semen beku.

Untuk mengetahui kelayakan semen segar yang akan diproduksi menjadi semen beku, dilakukan pemeriksaan sebagai berikut:

- Pemeriksaan makroskopis meliputi :
 - Warna : susu, krem dan kekuning-kuningan;
 - Volume : rata-rata sapi 5 ml, kerbau 2 ml;
 - PH : 6,2 – 6,8

13

2. Pembekuan (freezing)

Dilakukan setelah *pre-freezing*, straw diletakkan dalam goblet dan canister, diendam dalam N₂ cair suhu minus (-) 196° C.

L. Pengujian post thawing motility (Pengujian III)

Pengujian *Post Thawing Motility* dilakukan dengan menggunakan mikroskop. Penilaian untuk semen beku sapi sesuai SNI 01.4869.1-2005 dan untuk semen beku kerbau sesuai SNI 01.4869.2-2005, dengan ketentuan sebagai berikut:

1. Sperma sapi yang motil progresif minimal 40% dan gerak maju individu spermatozoa minimal 2 (dua);
2. Sperma kerbau yang motil progresif minimal 30% dan gerak maju individu spermatozoa minimal 2 (dua).

J. Penyimpanan

Penyimpanan semen beku dilakukan didalam kontainer kriogenik yang kapasitasnya bervariasi, dengan menggunakan goblet dan canister. Selama masa penyimpanan, straw harus selalu terendam penuh dalam N₂ cair.

K. Pengujian semen beku setelah penyimpanan (Pengujian IV)

Sesudah penyimpanan, semen beku sapi harus sesuai SNI 01.4869.1-2005 dan untuk semen beku kerbau sesuai SNI 01.4869.2-2005, dengan ketentuan sebagai berikut:

1. Sperma sapi yang motil progresif minimal 40% dan gerak maju individu spermatozoa minimal 2 (dua);
2. Sperma kerbau yang motil progresif minimal 30% dan gerak maju individu spermatozoa minimal 2.

Bagan proses produksi semen beku seperti tercantum dalam lampiran petunjuk teknis ini.

16

D. Pengujian semen setelah pengenceran (Pengujian II)

Pengujian semen dilakukan menggunakan mikroskop, dengan ketentuan sel spermatozoa yang motil progresif minimal 55%.

E. Equilibras

Equilibras harus dilakukan untuk semen beku secara bertahap sesuai dengan pengencer yang digunakan.

F. Identifikasi Straw

1. Pencetakan (*printing*) straw untuk semen beku meliputi kode pejection, nama pejection, kode batch, nama produsen (BIB) dan *breed* /rumpun pejection;
2. Warna straw dan kode pejection semen beku sapi dan kerbau sesuai dengan Peraturan Direktur Jenderal Peternakan Nomor 112/TN.270/Kpts/DJ/P/Deptan/02/97 tentang syarat dan spesifikasi teknis semen beku sapi dan kerbau serta alat penyimpanannya.

G. Pengemasan (filling and sealing)

Semen yang telah diencirkan selanjutnya dikemas pada suhu 4 - 5 ° C dengan memasukkannya ke dalam straw, ujung straw ditutup dengan sumbat (*filling and sealing*).

Straw yang dipergunakan adalah mini straw dengan ukuran 0,25 ml atau medium straw dengan ukuran 0,50 ml. Spermatozoa pada mini straw minimal berjumlah 25 juta spermatozoa, sedangkan pada medium straw minimal berjumlah 30 juta spermatozoa.

H. Proses pembekuan

Proses pembekuan semen dilakukan melalui 2 (dua) tahap yaitu :

1. *Pre pembekuan (pre-freezing)*
Dilakukan didalam *storage container*, straw disusun dirak dan diletakkan 2 - 4 cm diatas permukaan N₂ cair selama 5 - 9 menit.

15



tersebut minimal harus berisi keterangan tentang *breed* / bangsa, kode pejection, *kode batch*, jumlah straw untuk masing-masing goblet dan kanister, tanggal dan hasil pemeriksaan mutu semen beku.

IV. DISTRIBUSI SEMEN BEKU

Distribusi semen beku oleh unit pelaksana teknis dilakukan dalam rangka mendorong percepatan penyebaran bibit ternak yang memenuhi persyaratan teknis bibit di suatu wilayah untuk perbaikan mutu genetik dan produksi, baik dalam bentuk pengembangan sentra pembibitan dan atau kawasan perbibitan yang disesuaikan dengan potensi atau agroekosistem.

Pendistribusian semen beku harus dilakukan dengan mengikuti persyaratan teknis sebagai berikut :

1. Kontainer yang dipergunakan sesuai dengan jumlah straw yang di kirim.
 2. Straw harus terendam dalam N2 cair, dan kontainer harus terisi penuh N2 cair sampai batas leher.
 3. Untuk mengamankan dalam pengangkutan tiap-tiap kontainer harus terbungkus dan disegel serta dilengkapi dengan kartu petunjuk.
- Untuk menghindari terjadinya perkawinan antara dua individu yang bersaudara (*inbreeding*), maka distribusi dan penggunaan semen beku hendaknya memperhatikan catatan distribusi dan *breeding* program yang ditetapkan oleh dinas peternakan atau dinas yang membidangi fungsi peternakan di provinsi/kabupaten/kota. Oleh karena itu kegiatan distribusi dan penggunaan semen beku tersebut agar dilakukan dengan atau dibawah pembinaan dan pengawasan atau bimbingan teknis dinas setempat.

V. PENGAWASAN PRODUKSI DAN DISTRIBUSI

1. Pengawasan dilakukan mulai dari proses produksi sampai dengan distribusi dengan tujuan agar semen beku yang dihasilkan sesuai SNI yang telah ditetapkan dan distribusinya dapat dilakukan secara tepat sasaran;

18



L. Pengujian semen beku pada laboratorium uji

Dalam rangka menjamin mutu semen beku hasil produksi, maka wajib dilakukan uji mutu pada laboratorium uji yang telah terakreditasi (ISO 17025-2005), sewaktu-waktu atau secara berkala minimal 1 kali dalam setahun.

Prosedur pengujian pemohonan pengujian mutu semen beku mengikuti tata cara sebagai berikut :

- a. pemohonan diajukan secara tertulis oleh pimpinan unit pelaksana teknis yang ditujukan kepada Laboratorium pengujian yang telah terakreditasi.
- b. berdasarkan pemohonan tersebut pimpinan Laboratorium menunjuk petugas untuk mengambil contoh/sampel di unit pelaksana teknis pemohon.
- c. pengambilan contoh dilakukan oleh petugas pengambil contoh (PPC), minimal 2 (dua) straw dari setiap kode batch perindividu pejection.
- d. berdasarkan contoh tersebut laboran akan melakukan pengujian semen beku berdasarkan standar mutu yang telah ditetapkan.
- e. hasil pengujian disampaikan kepada pimpinan unit pelaksana teknis asal contoh dengan disertai keterangan yang menyatakan layak atau tidak layakya semen beku tersebut untuk didistribusikan.
- f. dalam hal unit pelaksana teknis asal semen beku keberatan dengan hasil uji laboratorium penguji, maka dapat menyampaikan pengaduan kepada Komite Akreditasi Nasional (KAN) untuk dilakukan uji ulang.

M. Pencatatan dan Identifikasi

Setiap produksi semen beku harus dilakukan pencatatan dan pada setiap pengiriman semen beku dalam kontainer harus disegel dan disertai kartu petunjuk isi kontainer. Kartu petunjuk isi kontainer

17

2. Pengawasan dilakukan oleh pejabat fungsional pengawasan bibit tamak atau petugas yang ditunjuk oleh kepala dinas peternakan atau dinas yang membidangi fungsi peternakan di provinsi atau kabupaten/kota sesuai dengan tanggung jawab dan kewenangannya masing-masing.
3. Petugas yang ditunjuk untuk melaksanakan pengawasan produksi dan distribusi semen beku wajib membuat laporan hasil pengawasan secara berkala setiap satu bulan sekali kepada pejabat yang menugaskan dengan tembusan kepada pimpinan unit pelaksana teknis asal semen beku.
4. Untuk menilai keberhasilan produksi dan distribusi semen beku dilakukan evaluasi oleh dinas peternakan atau dinas yang membidangi fungsi peternakan di provinsi atau kabupaten/kota sesuai dengan kewenangannya, secara berkala yang dilaksanakan sekurang-kurangnya 6 (enam) bulan sekali.

VI. PENUTUP

Petunjuk teknis produksi dan distribusi semen beku ini merupakan acuan bagi unit pelaksana teknis di pusat dan daerah yang mempunyai tugas dibidang produksi dan distribusi semen beku serta pelaku usaha yang telah memperoleh akreditasi sebagai produsen semen beku.

Petunjuk teknis ini akan disesuaikan kembali berdasarkan perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi.

DIREKTUR JENDERAL,



TJEPPY D. SOEDJANA