

SKRIPSI

**PENGARUH PENAMBAHAN FRUKTOSA KE DALAM
PENGECER A ORGANIK SEMEN BEKU SAPI FH
TERHADAP MOTILITAS DAN PERSENTASE
HIDUP SPERMATOZOA *POST THAWING***



Oleh :

ICUK SUKACA
060513448

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2009**

**PENGARUH PENAMBAHAN FRUKTOSA KE DALAM
PENGECER A ORGANIK SEMEN BEKU SAPI FH
TERHADAP MOTILITAS DAN PERSENTASE
HIDUP SPERMATOCYTES *POST THAWING***

Skripsi

sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

pada

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh

ICUK SUKACA

060513448

Menyetujui

Komisi Pembimbing,

(Emile.B.S.Tjahjokoesoemo, MS., drh.)
Pembimbing Pertama

(Dr. Ngakan Made Rai Widjaja, MS., drh.)
Pembimbing Kedua

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi berjudul :

**PENGARUH PENAMBAHAN FRUKTOSA KE DALAM PENGECER A
ORGANIK SEMEN BEKU SAPI FH TERHADAP MOTILITAS DAN
PERSENTASE HIDUP SPERMATOZOA *POST THAWING***

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, 10 Juli 2009

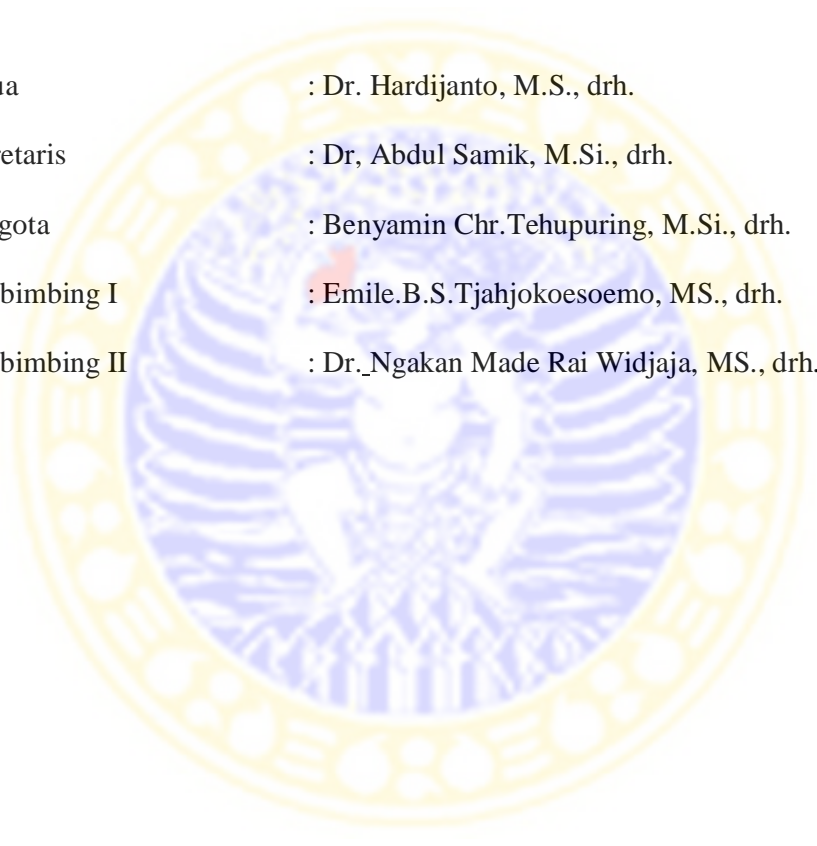
ICUK SUKACA
NIM 060513448

Telah dinilai pada Seminar Hasil Penelitian

Tanggal : 26 Juni 2009

KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN

Ketua : Dr. Hardijanto, M.S., drh.
Sekretaris : Dr, Abdul Samik, M.Si., drh.
Anggota : Benyamin Chr.Tehupuring, M.Si., drh.
Pembimbing I : Emile.B.S.Tjahjokoemo, MS., drh.
Pembimbing II : Dr._Ngakan Made Rai Widjaja, MS., drh.



Telah diuji pada

Tanggal : 10 Juli 2009

KOMISI PENGUJI SKRIPSI

Ketua : Dr. Hardijanto, M.S., drh.

Anggota : Dr. Rr. Sri Pantja Madyawati, M. Si., drh.

Benyamin Chr.Tehupuring, M.Si., drh.

Emile.B.S.Tjahjokoesoemo, MS., drh.

Dr._Ngakan Made Rai Widjaja, MS., drh.

Surabaya, 13 Juli 2009

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,

Prof. Hj. Romziah Sidik, Ph.D., Drh.

NIP. 130 687 305

**THE INFLUENCE OF FRUCTOSE ADDED IN THE FROZEN SEMEN A
ORGANIC DILUTER OF FH COW TOWARD MOTILITY AND LIFE
PERCENTAGE OF POST THAWING SPERMATOZOA**

Icuk Sukaca

ABSTRACT

The aims of this research was to know the influence of fructose added in the frozen semen A organic diluter of FH cow toward motility and life percentage of post thawing spermatozoa. This research have used the FH semen within a fully randomized design. Design with three treatments. The group P0 (control) was without a fructose addition, the group P1 was treated by 1% fructose addition eventhough the group P2 was treated by 2% fructose addition. The data analyzed by ANOVA using SPSS for windows 13.0. The highest motility and life percentage of spermatozoa was founded in the P1 in evaluation of before freezing and post thawing. The lowest motility and life percentage of spermatozoa was founded in the P2 in evaluation of before freezing and post thawing.

Key words : spermatozoa, fructose, motility, life percentage

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas karunia yang telah dilimpahkan sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi dengan judul **Pengaruh Penambahan Fruktosa ke dalam Pengencer A Organik Semen Beku Sapi FH Terhadap Motilitas dan Persentase Hidup Spermatozoa *Post Thawing***.

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada :

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

Emile.B.S.Tjahjokoesoemo, MS., drh selaku pembimbing pertama dan Dr. Ngakan Made Rai Widjaja, MS., drh selaku pembimbing kedua, atas saran dan bimbingannya sampai dengan selesainya skripsi ini.

Dr. Hardijanto, M.S., drh selaku ketua penguji, Dr, Abdul Samik, M.Si., drh selaku sekretaris penguji dan Benyamin Chr.Tehupuring, M.Si., drh selaku anggota penguji, atas bimbingan, nasehat dan saran yang diberikan untuk perbaikan skripsi ini.

Trilas Sadjito, M.Si., drh selaku dosen wali, atas segala nasehat dan motivasi yang diberikan kepada penulis.

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

Tri Wahyu Suprayogi, M.Si., drh dan seluruh staf di *Teaching Farm* Gresik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas bantuan teknik dalam proses penelitian ini.

Ayah, ibu, mas Anom, mbak Jimat, adek Yohanes dan adek Gloria yang tercinta yang telah memberikan segalanya, bantuan doa, dorongan dan semangat.

Ruth Flora Carolina Sinaga dan Ninik Wuriandani yang telah banyak memberikan motivasi kepada penulis selama kuliah di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Sahabat-sahabat tercinta Jeremy, Ratih, Rino, Larry, Sumenahem, Jerico, Daniel, Fajar, Bayu, Gopo, Firman dan seluruh teman-teman mahasiswa angkatan 2005 Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga yang telah memberikan bantuan dan doa.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penyelesaian skripsi ini. Penulis mengharap kritik dan saran untuk kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat untuk kemajuan ilmu pengetahuan.

Surabaya, Juni 2009

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN	iii
HALAMAN IDENTITAS	iv
ABSTRACT	v
UCAPAN TERIMAKASIH	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1. Latar belakang penelitian	1
1.2. Rumusan masalah	3
1.3. Landasan teori	3
1.4. Tujuan penelitian	5
1.5. Manfaat penelitian	5
1.6. Hipotesis	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1. Sapi Friesian Holstein (FH)	7
2.2. Alat reproduksi sapi jantan	8
2.3. Semen sapi	10
2.4. Evaluasi semen	12
2.5. Motilitas spermatozoa	13
2.6. Persentase hidup spermatozoa	14
2.7. Bahan pengencer	15
2.8. Semen beku	16
2.9. Fruktosa	17
BAB 3 MATERI DAN METODE	20
3.1. Waktu dan tempat penelitian	20
3.2. Materi penelitian	20
3.2.1. Hewan penelitian	20
3.2.2. Bahan penelitian	20
3.2.3. Peralatan penelitian	20
3.3. Metode penelitian	21
3.3.1. Prosedur kerja	21
3.3.1.1. Penampungan semen sapi FH	21

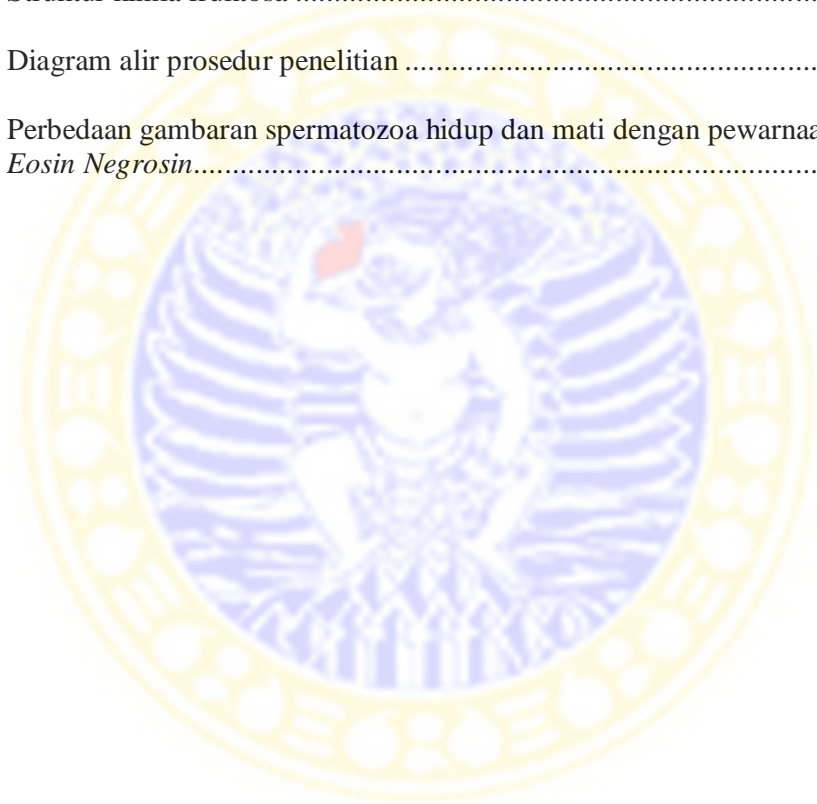
3.3.1.2. Evaluasi awal makroskopis.....	21
3.3.1.2. Evaluasi awal motilitas spermatozoa	22
3.3.1.3. Evaluasi awal persentase hidup spermatozoa ..	22
3.3.1.4. Pembuatan <i>buffer</i> antibiotik.....	23
3.3.1.5. Pembuatan pengencer A organik	23
3.3.1.6. Pembuatan pengencer B organik.....	23
3.3.1. Pembekuan semen	23
3.3.2.1. Pengenceran semen	23
3.3.2.2. Evaluasi <i>before freezing</i>	24
3.3.2.3. <i>Filling</i> dan <i>sealing</i>	25
3.3.2.4. <i>Before freezing</i>	25
3.3.2.5. <i>Freezing</i>	25
3.3.2.6. <i>Post thawing motility</i>	25
3.3.2.7. Persentase hidup spermatozoa <i>post thawing</i>	26
3.3.3. Perlakuan	26
3.3.4. Variabel penelitian	26
3.3.4.1. Variabel bebas.....	26
3.3.4.2. Variabel tergantung	26
3.3.4.3. Variabel kendali	26
3.3.4.4. Definisi operasional.....	27
3.4. Rancangan penelitian dan analisis data	27
BAB 4 HASIL PENELITIAN.....	30
4.1. Evaluasi awal semen	30
4.2. Evaluasi semen <i>before freezing</i>	31
4.2.1. Motilitas spermatozoa	31
4.2.2. Persentase hidup spermatozoa	32
4.3. Evaluasi <i>post thawing</i>	33
4.3.1. Motilitas spermatozoa	33
4.3.2. Persentase hidup spermatozoa	34
BAB 5 PEMBAHASAN.....	37
5.1. Evaluasi awal semen.....	37
5.2. Evaluasi semen <i>before freezing</i> dan <i>post thawing</i>	39
5.2.1. Motilitas spermatozoa.....	39
5.2.2. Persentase hidup spermatozoa.....	41
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN.	44
6.1. Kesimpulan	44
6.2. Saran	44
RINGKASAN	46
DAFTAR PUSTAKA	49
LAMPIRAN	52

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1. Hasil evaluasi awal semen sapi FH secara makroskopis	30
4.2. Hasil evaluasi awal semen secara mikroskopis	31
4.3. Rerata motilitas dan simpangan baku spermatozoa <i>before freezing</i>	32
4.4. Rerata dan simpangan baku persentase hidup spermatozoa <i>before freezng</i>	33
4.5. Rerata dan simpangan baku motilitas spermatozoa <i>post thawing</i>	34
4.6. Rerata dan simpangan baku persentase hidup spermatozoa <i>post thawing</i>	35

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Sapi perah FH	7
2.2. Alat reproduksi sapi jantan.....	10
2.3. Struktur kimia fruktosa	18
3.1. Diagram alir prosedur penelitian	29
4.1. Perbedaan gambaran spermatozoa hidup dan mati dengan pewarnaan <i>Eosin Negrosin</i>	35



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Data persentase hidup spermatozoa setelah dievaluasi beserta hasil transformasinya.....	52
2. Anova persentase hidup spermatozoa setelah penambahan fruktosa <i>before freezing</i>	53
3. Anova persentase hidup spermatozoa setelah penambahan fruktosa <i>post thawing</i>	54
4. Data motilitas spermatozoa setelah dievaluasi beserta hasil transformasinya.....	55
5. Anova motilitas spermatozoa setelah penambahan fruktosa <i>before freezing</i>	56
6. Anova motilitas spermatozoa setelah penambahan fruktosa..... <i>post thawing</i>	57
7. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian	58
8. Sampel semen sapi FH yang digunakan	59
9. Fruktosa yang digunakan dalam penelitian	60
10. Proses gliserolisasi	61
11. Evaluasi motilitas dan persentase hidup spermatozoa	62

SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

ADP	= Adenosin Diphosphate
AMP	= Adenosin Monophosphate
ATP	= Adenosin Triphosphate
ANOVA	= <i>Analysis of Variance</i>
FH	= Friesian Holstein
FSH	= <i>Follicle Stimulating Hormone</i>
IB	= Inseminasi Buatan
N ₂ Cair	= Nitrogen Cair
RAL	= Rancangan Acak Lengkap
SPSS	= Statistical Packed for Social Science

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Penelitian

Inseminasi Buatan (IB) adalah salah satu bioteknologi dalam bidang reproduksi ternak yang memungkinkan manusia mengawinkan ternak betina yang dimilikinya tanpa perlu seekor pejantan utuh. IB sebagai teknologi merupakan suatu rangkaian proses yang terencana dan terprogram karena akan menyangkut kualitas genetik ternak di masa yang akan datang. Pelaksanaan dan penerapan teknologi IB di lapangan dimulai dengan langkah pemilihan pejantan unggul sehingga akan lahir anak-anak yang kualitasnya lebih baik dari induknya. Selanjutnya dari pejantan tersebut dilakukan penampungan semen, penilaian kelayakan kualitas semen, pengolahan dan pengawetan semen dalam bentuk cair atau beku, serta teknik inseminasi yaitu cara penempatan (inseminasi/ deposisi) ke dalam saluran reproduksi ternak betina (Kartasudjana, 2001).

Salah satu faktor yang mendukung keberhasilan IB adalah tingginya kualitas semen yang digunakan (Norman *et al*, 2003). Pelaksanaan IB dapat dilakukan dengan menggunakan semen segar, semen yang telah diencerkan dengan bahan pengencer tertentu maupun semen beku (Mulyadi, 2008).

Pengertian semen beku adalah semen yang berasal dari sapi pejantan unggul sehat, bebas penyakit hewan menular, kemudian diencerkan sesuai prosedur produksi semen beku dan disimpan dalam kontainer kriogenik berisi nitrogen cair dengan suhu -196°C (Direktorat Jendral Peternakan, 2007).

Motilitas spermatozoa akan berkurang selama gliserolisasi, *equilibrasi*, *freezing* dan *thawing*. Selama produksi semen beku sapi FH, kematian spermatozoa yang akan terjadi berkisar antara 20% sampai dengan 80% (Toelihere, 1993).

Berdasar prosedur tetap (Protap) Produksi dan Distribusi Semen sapi beku di Indonesia, untuk mengurangi kematian spermatozoa dalam *equilibrasi*, gliserolisasi, *freezing* maupun *thawing* dibutuhkan dua macam pengencer, yaitu pengencer organik dan pengencer anorganik. Pengencer organik terdiri dari dua yaitu pengencer A dan pengencer B. Pengencer A tersusun dari : *buffer* antibiotik dan kuning telur. Pengencer B tersusun dari : *buffer* antibiotika, gliserol, kuning telur dan glukosa (Direktorat Jendral Peternakan, 2000).

Pada produksi semen beku sapi FH dengan pengencer organik diperlukan energi tambahan berupa glukosa yang terkandung di dalam pengencer B pada tahap gliserolisasi. Tahap gliserolisasi membutuhkan waktu 1-1,5 jam setelah penambahan pengencer A organik ke dalam semen (Direktorat Jendral Peternakan, 2007). Sebelum tahap gliserolisasi, semen secara alami mengandung 1% fruktosa sebagai sumber energi spermatozoa pada produksi semen beku sapi FH dengan pengencer organik (Salisbury dan Van Denmark, 1995).

Peneliti mencoba menambahkan fruktosa 1% dan 2% ke dalam pengencer A organik sebagai sumber energi tambahan spermatozoa sebelum memasuki tahap gliserolisasi. Penambahan fruktosa 1% dan 2% ke dalam pengencer A organik diharapkan dapat meningkatkan angka motilitas dan persentase hidup spermatozoa *post thawing*.

Sampai saat ini belum pernah diteliti pengaruh penambahan fruktosa 1% dan 2% ke dalam pengencer A organik dalam produksi semen beku sapi FH terhadap motilitas dan persentase hidup spermatozoa *post thawing*.

Berdasarkan latar belakang di atas maka peneliti ingin mengetahui pengaruh penambahan fruktosa 1% dan 2% ke dalam pengencer A organik terhadap motilitas dan persentase hidup spermatozoa pada pemeriksaan *before freezing* dan *post thawing*.

1.2. Rumusan Masalah

1. Apakah penambahan fruktosa 1% dan 2% ke dalam pengencer A organik semen beku sapi FH berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa *post thawing*?
2. Apakah penambahan fruktosa 1% dan 2% ke dalam pengencer A organik semen beku sapi FH berpengaruh terhadap persentase hidup spermatozoa *post thawing*?

1.3. Landasan Teori

Pembekuan semen menyebabkan penurunan motilitas dan persentase hidup spermatozoa. Menurut Toelihere (1993) spermatozoa tidak tahan hidup untuk waktu lama, maksimal 16 jam setelah diejakulasikan, kecuali bila ditambahkan ke dalam semen tersebut unsur tambahan yang bersifat : isotonik terhadap semen, buffer, sumber nutrisi untuk metabolisme spermatozoa, melindungi spermatozoa dari perubahan suhu, berefek anti bakteri dan tidak

bersifat toksik baik terhadap spermatozoa maupun terhadap saluran kelamin ternak betina (Direktorat Jendral Peternakan, 2007).

Tujuan pengenceran semen adalah untuk meningkatkan volume semen, sehingga dari satu kali ejakulasi semen seekor pejantan memungkinkan untuk menginseminasi beberapa ratus ekor betina, semen dapat disimpan lama, tanpa mengurangi kesuburannya, memungkinkan pengiriman semen yang tidak terbatas jaraknya, terutama pada semen beku, dan memudahkan dosis inseminasi (Hardijanto dkk, 2007).

Semen mengandung 1% fruktosa disamping persenyawaan organik lainnya seperti asam sitrat, sorbitol, inositol, gliserilfosforilcholin, ergotionin, fosfolipid, prostaglandin, asam amino dan asam oksalat (Salisbury dan Van Denmark, 1995). Kadar 1% fruktosa di dalam semen dipakai sebagai sumber energi spermatozoa sebelum tahap gliserolisasi pada produksi semen beku sapi FH dengan pengencer organik (Direktorat Jendral Peternakan, 2000).

Penambahan fruktosa 1% dan 2% ke dalam pengencer A organik untuk memperpanjang ketersediaan sumber energi bagi spermatozoa sebelum tahap gliserolisasi pada produksi semen beku sapi FH dengan pengencer organik.

Penambahan fruktosa 1% dan 2% ke dalam pengencer A organik digunakan sebagai sumber energi tambahan untuk metabolisme spermatozoa sebelum tahap gliserolisasi pada produksi semen beku sapi FH dengan pengencer organik, sehingga dapat menekan penurunan angka motilitas dan persentase hidup spermatozoa pada pemeriksaan *before freezing* maupun *post thawing*.

1.4. Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang di atas, penelitian ini dilakukan dengan tujuan ;

1. Menghitung motilitas spermatozoa *post thawing* akibat pengaruh penambahan fruktosa 1% dan 2% ke dalam pengencer A organik semen beku sapi FH.
2. Menghitung persentase hidup spermatozoa *post thawing* akibat pengaruh penambahan fruktosa 1% dan 2% ke dalam pengencer A organik semen beku sapi FH.

1.5. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dalam penelitian ini adalah:

1. Memperoleh data sumber energi asal fruktosa untuk produksi semen beku yang bisa diterapkan sebagai sumber energi di dalam pengencer semen beku hewan ternak selain sapi.
2. Menghasilkan semen beku sapi FH yang berkualitas, yaitu semen beku yang angka motilitas dan persentase hidup *post thawing* nya tinggi.

1.6. Hipotesis

Hipotesis yang dirumuskan pada penelitian ini adalah :

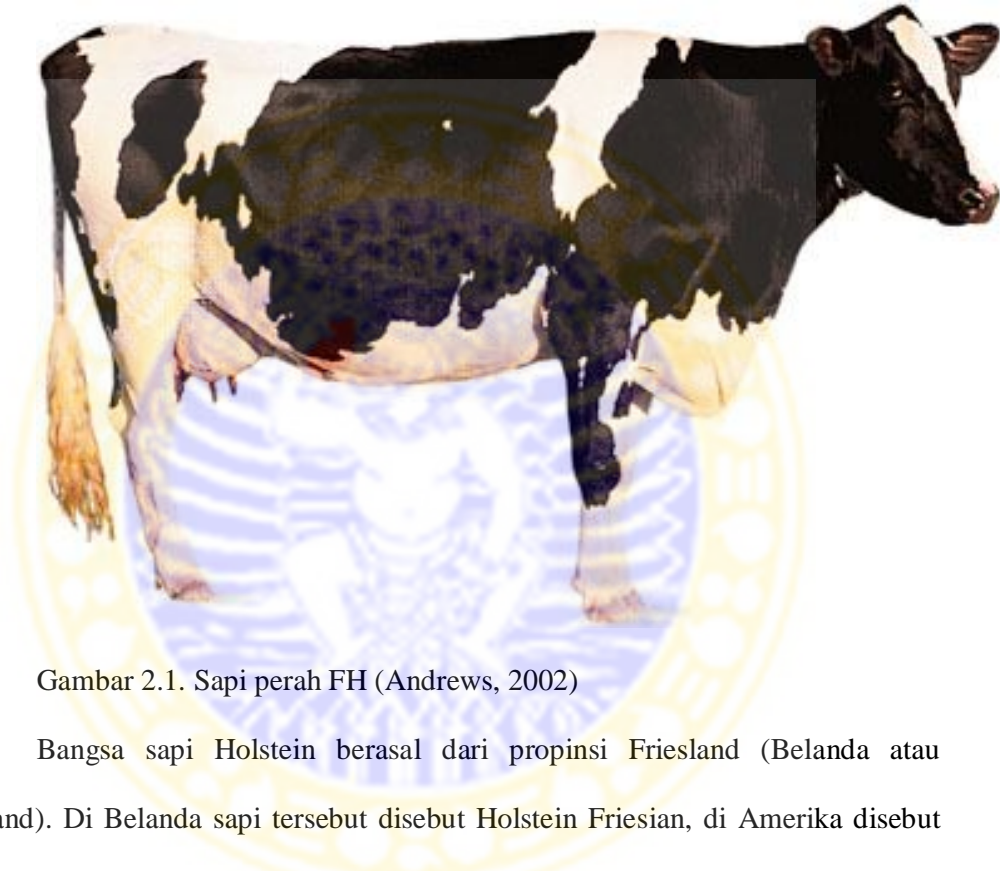
1. Penambahan fruktosa 1% dan 2% ke dalam pengencer A organik semen beku sapi FH dapat meningkatkan motilitas spermatozoa.

2. Penambahan fruktosa 1% dan 2% ke dalam pengencer A organik semen beku sapi FH dapat meningkatkan persentase hidup spermatozoa.



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Sapi Friesian Holstein (FH)



Gambar 2.1. Sapi perah FH (Andrews, 2002)

Bangsa sapi Holstein berasal dari propinsi Friesland (Belanda atau Holand). Di Belanda sapi tersebut disebut Holstein Friesian, di Amerika disebut Holstein. Di Indonesia sapi tersebut disebut Fries Holand atau Friesian Holstein (FH) (Soetarno, 2003).

Sapi FH memiliki ciri fisik seperti warna bulunya belang hitam putih dengan perbatasan tegas sehingga tidak terdapat warna bayang, pada dahinya terdapat warna putih berbentuk segitiga, pada bagian dada, perut bawah, kaki dari teracak sampai lutut dan bulu ekor kipas berwarna putih, memiliki tanduk berukuran kecil menjurus kedepan. Selain itu sapi FH memiliki sifat yang tenang ,

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. Berat badan sapi jantan mencapai 850 kg dan sapi betina mencapai 625 kg (Departemen Pertanian, 2007). Bangsa perah Holstein mempunyai kemampuan menghasilkan air susu lebih banyak dari pada sapi perah lainnya, yaitu mencapai 5982 liter per laktasi dengan kadar lemak 3,7% (Patton et al, 2007).

2.2. Alat Reproduksi Sapi Jantan

Sistem reproduksi sapi jantan terdiri dari testis, epididimis, duktus deferens, urethra, kelenjar vesikula, kelenjar prostate, kelenjar bulbourethralis serta penis (Hafes and Hafez, 2000).

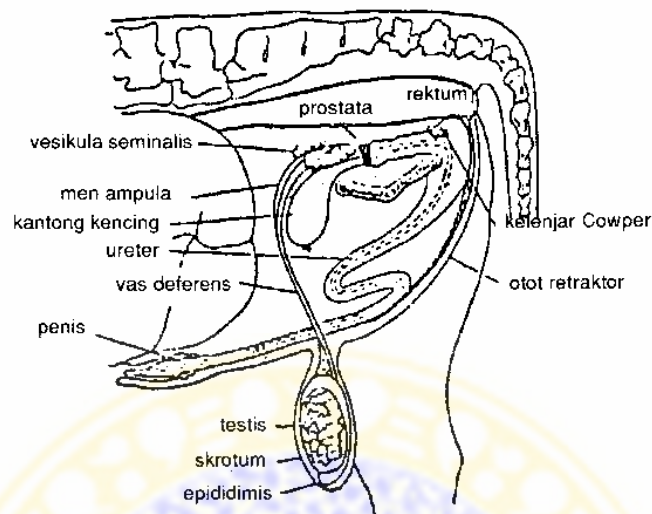
Testis berjumlah 2 buah dan secara normal terbungkus oleh suatu kantong skrotum, yang berfungsi melindungi testis terhadap gangguan dari luar maupun panas dan dingin serta mekanisme lainnya (Ismudiono, 1999). Testis mempunyai 2 macam fungsi utama, yang menghasilkan hormon seks jantan adalah androgen dan menghasilkan gamet jantan disebut sperma (Hafes, 2000).

Epididimis berbentuk bulat panjang dan melekat pada testis. Epididimis terbagi menjadi caput, corpus dan cauda. Fungsi epididimis adalah sebagai transportasi, konsentrasi, pendewasaan dan timbunan spermatozoa (Hardjopranjoto, 1995). Duktus deferens merupakan saluran semen lanjutan dari cauda epididimis sampai ke urethra (Widayanti, 2005). Semen dikeluarkan

melalui urethra yang merupakan saluran urogenitalis, yaitu saluran untuk mengeluarkan urin dan semen (Salisbury dan Van Denmark, 1995).

Kelenjar aksesoris terdiri dari vesikula seminalis, prostate dan kelenjar bulbourethralis. Vesikula menyumbangkan sekitar 60% total volume semen. Cairan tersebut mengandung mukus, gula fruktosa (yang menyediakan sebagian besar energi yang digunakan oleh spermatozoa), enzim pengkoagulasi, asam askorbat, dan prostaglandin. Kelenjar prostate adalah kelenjar pensekresi terbesar. Cairan prostate bersifat encer dan seperti susu, mengandung enzim antikoagulan, sitrat (nutrient bagi spermatozoa), dan sedikit asam. Kelenjar bulbourethralis adalah sepasang kelenjar kecil yang terletak di sepanjang urethra, di bawah prostate. Sebelum ejakulasi kelenjar tersebut mensekresi mucus bening yang menetralkan setiap urine asam yang masih tersisa dalam urethra (Ombakkkuta, 2007).

Penis sapi bertipe fibro elastis yang selalu dalam keadaan kaku dan kenyal walaupun dalam keadaan tidak aktif atau non ereksi, dimana perbedaan panjang penis antara ereksi dan non ereksi adalah 3:2 (Ismudiono, 1999). Penis sapi berfungsi untuk menyemprotkan semen ke dalam saluran reproduksi hewan betina pada saat kopulasi dan juga untuk lewatnya urine (Partodiharjo, 1980).



Gambar 2.2. Alat reproduksi sapi jantan (Tomaszewska dkk., 1991).

2.3. Semen Sapi

Semen adalah hasil sekresi kelamin jantan secara normal yang diejakulasikan ke saluran kelamin betina sewaktu kopulasi atau ditampung dengan berbagai cara untuk keperluan inseminasi buatan (Hafez and Hafez, 2000). Volume semen sapi yang diperoleh perejakulasi berkisar 1,0-15,0 ml. Semen sapi mempunyai volume yang kecil dengan konsentrasi spermatozoa yang tinggi, sehingga memberi warna krem atau putih kekuningan. Bau semen sapi normal seperti air susu dengan PH 6,4-6,8 (Hardijanto dkk, 2007).

Semen sapi terdiri dari dua bagian, spermatozoa dan plasma semen. Sebagian besar volume semen terdiri dari plasma semen. Plasma semen mengandung bahan-bahan penyanggah, dan makanan sebagai sumber energi bagi spermatozoa (Partodiharjo, 1980). Plasma semen merupakan kombinasi sekresi semua kelenjar asesori kelamin, sebagian besar berasal dari prostate (13-33%) dan

vesikula seminalis (46-80%), sedangkan sisanya berasal dari kelenjar bulbouretralis, cowper, ampula, epididimis serta kelenjar-kelenjar pada urethra (Na'im, 1996). Plasma semen mengandung bermacam-macam zat organik, inorganik dan air. Senyawa-senyawa organik termasuk fruktosa, asam sitrat, sorbitol, inositol, gliseril fosforil cholin, ergotionin, phospholipid, prostaglandin, asam amino dan asam oksalat (Salisbury and Van Denmark, 1995).

Spermatozoa merupakan hasil produksi dari kelamin jantan, yang dikeluarkan bersama-sama dengan plasma semen (Evarini, 2006). Spermatozoa terdiri dari kepala, leher dan ekor. Di dalam kepala terdapat inti yang mengandung kromosom, didalam tiap-tiap kromosom mengandung gen yang membawa sifat. Bagian tengah atau leher spermatozoa adalah pusat tenaga yaitu tempat dihasilkannya energi dalam bentuk ATP untuk gerakan spermatozoa (Salisbury dan Van Denmark, 1995). Ekornya dipakai untuk pergerakan spermatozoa, terutama pergerakan di dalam alat kelamin betina dalam usahanya mencapai sel telur yang ada di daerah tuba falopii untuk dibuahi. Spermatozoa diproduksi di dalam Tubulus seminiferus yang dipengaruhi oleh follicle stimulating hormon (FSH). Proses pembentukan spermatozoa (spermatogenesis) dapat dibagi menjadi dua fase yaitu spermatositogenesis dan spermiogenesis. Spermatositogenesis adalah proses pembentukan spermatosit primer dan sekunder dari spermatogonia tipe A yang dikendalikan oleh FSH dari hipofisis anterior. Spermatogenesis pada hewan mamalia dibagi menjadi empat tahap yaitu tahap proliferasi yaitu bakat sel kelamin yang ada pada lapisan basal dari tubulus semeniferus melepaskan diri dan membelah secara mitosis sampai dihasilkan banyak sel spermatogonia, tahap

tumbuh yaitu spermatogonia membagi diri secara mitosis sebanyak empat kali sehingga dihasilkan 16 spermatosit primer, tahap menjadi masak, pada tahap ini terjadi pembelahan mitosis sehingga sel spermatosit primer berubah menjadi sel spermatosit sekunder dan jumlah kromosom menjadi separuhnya dan yang terakhir tahap transformasi, pada tahap ini terjadi proses metamorfosa seluler dari sel spermatid sehingga terbentuk sel spermatozoa atau sel mati. Spermatogenesis adalah proses pembentukan spermatozoa dari spermatid yang dikendalikan oleh testosteron. Pada fase ini sel spermatid akan mengalami metamorfosa sehingga menyebabkan terbentuknya spermatozoa secara sempurna (Hardjopranto, 1995).

2.4. Evaluasi Semen

Evaluasi semen merupakan suatu tindakan yang perlu dilakukan untuk melihat kuantitas dan kualitas semen. Evaluasi semen dibagi menjadi dua kelompok, yaitu makroskopis dan mikroskopis. Evaluasi makroskopis meliputi : volume, bau, warna, kekentalan dan pH. Sementara itu evaluasi mikroskopis meliputi gerakan massa spermatozoa, gerakan individu spermatozoa, konsentrasi spermatozoa dalam tiap mililiter semen, konsentrasi spermatozoa hidup dalam setiap mililiter semen dan konsentrasi spermatozoa mati dalam setiap mililiter semen (Kartasudjana, 2001).

Gerakan massa spermatozoa mencerminkan daya gerak dan konsentrasi spermatozoa. Cara pemeriksaan gerakan massa adalah dengan meletakkan satu tetes semen di atas gelas obyektif dan diamati melalui mikroskop dengan pembesaran 100 X.

Evaluasi gerakan individu spermatozoa dilakukan dengan menggunakan larutan NaCl fisiologis yang ditetaskan di atas gelas obyek kemudian ditambahkan satu tetes semen dan diaduk hingga homogen. Setelah gelas obyek ditutup dengan gelas penutup, dilakukan pemeriksaan gerakan individu melalui mikroskop dengan pembesaran 400 X.

Evaluasi konsentrasi spermatozoa dengan menggunakan *spektrofotometer mini tube* SDM5.

2.5. Motilitas Spermatozoa

Persentase motilitas spermatozoa atau daya geraknya dijadikan patokan dalam menilai kualitas semen beku (Toelihere, 1993). Motilitas spermatozoa yang bagus memungkinkan spermatozoa dapat mencapai sel telur di dalam *oviduct* dalam waktu yang relative singkat (Hardijanto dkk, 2007).

Spermatozoa dikatakan motil apabila spermatozoa tersebut bergerak ke depan (*Progresif motility*), sedangkan spermatozoa yang bergerak dengan gerakan melingkar disebut *non progresif motility* (Direktorat Jendral Peternakan, 2007). Penilainnya adalah sebagai berikut (Hardijanto dkk, 2007) :

1. Gerakan *progresive* (P) adalah gerakan maju kedepan.
2. Gerakan *oscillatoris* atau *vibratosis* (O atau P) adalah gerakan ayunan, berputar dan lambat.
3. Gerakan *circular* (C) merupakan gerakan melingkar.
4. Gerakan *reverse* (R) merupakan gerakan mundur.
5. *Nekrospermia* (N) yaitu tidak ada gerakan.

Menurut Direktorat Jenderal Peternakan (2000) penilaian motilitas spermatozoa berdasarkan kecepatannya yaitu nol (0) tidak ada gerakan individu spermatozoa, satu (1) gerakan individu spermatozoa yang lamban, dua (2) gerakan individu spermatozoa sedang, tiga (3) gerakan individu spermatozoa cepat dan empat (4) gerakan individu spermatozoa sangat cepat.

Pada tehnik pembekuan semen, jumlah spermatozoa yang motil setelah pembekuan (*post thawing motility*) sebesar 40% (Tanaka *et al.*, 2002). Pemeriksaan motilitas spermatozoa pada saat *post thawing motility* dilakukan dengan cara mengamati beberapa lapangan pandang mikroskop yang didominasi oleh spermatozoa yang hidup dan bergerak progresif, kemudian ditentukan berapa persentase spermatozoa yang hidup dan bergerak progresif. Nilai $\geq 40\%$ langsung dapat digunakan atau dikirim ke lapangan untuk pelaksanaan inseminasi. Nilai $< 40\%$ dipertimbangkan. Standar minimal untuk sapi persentase motil 40% dengan nilai gerakan 3 ditulis 40/3 dapat dipertimbangkan bila 40/2 (Direktorat Jenderal Peternakan, 2007).

2.6. Persentase Hidup Spermatozoa

Persentase spermatozoa yang hidup ditentukan dengan pewarna eosin. Spermatozoa yang hidup ditandai dengan kepalanya yang berwarna putih, sedangkan spermatozoa yang mati ditandai dengan kepalanya yang berwarna merah (Muhamadrisal, 2005). Spermatozoa yang hidup tidak akan terwarnai oleh eosin karena lapisan lipid pada dinding spermatozoa dapat melindungi zat warna masuk dalam sel. Sedangkan pada spermatozoa yang telah mati karena rusak atau

hilangnya lapisan lipid pada dinding spermatozoa maka zat pewarna eosin sangat mudah menembus masuk ke dalam sel (Hardijanto dan Hardjopranjoto, 1994). Minimal 100 spermatozoa dihitung dengan mikroskop cahaya melalui pembesaran 400X (Muhammadrisal, 2005).

2.7. Bahan Pengencer

Pengencer semen sapi ada dua macam, yaitu pengencer organik dan pengencer anorganik. Pengencer organik terdiri dari dua yaitu pengencer A dan pengencer B. Pengencer A tersusun dari : *buffer* antibiotik dan kuning telur. Pengencer B tersusun dari : *buffer* antibiotika, gliserol, kuning telur dan glukosa. Pengencer anorganik terdiri dari dua alternatif. Alternatif pertama dengan bahan pengencer A terdiri dari *tris amino methan, citic acid, lactosa, fruktosa, raffinosa, kuning telur, penicyllin, streptomycin* dan *aquabides*, sedangkan bahan pengencer B terdiri dari pengencer A ditambah gliserol. Alternatif kedua dengan bahan pengencer A terdiri dari *hidroksimetil metilamin, asam sitrat, fruktosa, lincospectin tylan, gentamycin, gliserol, kuning telur* dan *aquabides*, sedangkan bahan pengencer B terdiri dari *buffer, gliserol, aquabides* dan *lincospectin* (Direktorat Jendral Peternakan, 2000).

Pengencer semen sapi mempunyai fungsi sebagai berikut (Toelihere, 1993) :

1. Menyediakan zat-zat makanan sebagai sumber energi bagi spermatozoa.
2. Melindungi spermatozoa terhadap *cold shock*.

3. Menyediakan suatu penyanggah untuk mencegah perubahan pH akibat pembentukan asam laktat dari hasil metabolisme spermatozoa.
4. Mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit yang sesuai.
5. Mencegah pertumbuhan kuman.
6. Memperbanyak volume semen sehingga lebih banyak hewan betina dapat di-inseminasi dengan satu ejakulat.

2.8. Semen Beku

Pembuatan semen beku merupakan upaya manusia memperpanjang daya hidup dan daya fertilitas spermatozoa sehingga masa pakai semen tersebut dapat lebih lama (Kartasudjana, 2001). Semen beku adalah semen yang telah diencerkan menurut prosedur biasa, lalu dibekukan jauh di bawah titik nol beku air (Partodiharjo, 1980). Semen beku disimpan di dalam kontainer kriogenik dengan cara merendamnya dengan nitrogen cair yang bersuhu -196°C (Direktorat Jendral Peternakan, 2007).

Semen beku mempunyai keuntungan dan kerugian keuntungan semen beku adalah sebagai berikut (Situmorang, 2003) :

1. Perkawinan selektif dapat dilaksanakan.
2. Semen sapi dapat dipisahkan dari bahan-bahan yang membahayakan.
3. Dapat memilih pejantan yang akan digunakan dalam inseminasi buatan.
4. Mencegah penyakit yang menular.

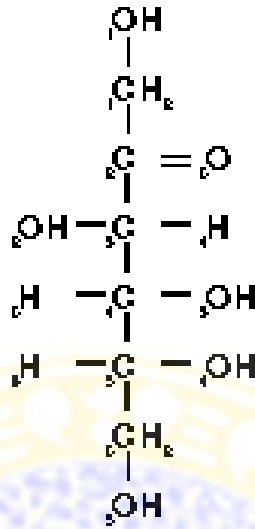
Kerugian semen beku adalah sebagai berikut (Partodiharjo, 1980) :

1. Semen beku dapat menyebabkan terbatasnya jumlah pejantan yang dipakai dalam inseminasi buatan.
2. Kira-kira 30% spermatozoa pejantan tidak tahan terhadap pembekuan.
3. Pada proses pembekuan antara 20% sampai 80% spermatozoa akan mati.
4. Semen beku mahal harganya.
5. Jika kesehatan pejantan tidak dipertahankan maka semen beku mempunyai potensi untuk menyebarkan penyakit viral dan bakterial.

Problema pembekuan semen berkisar pada dua fenomena yaitu pengaruh *cold shock* terhadap sel yang dibekukan dan perubahan-perubahan intraseluler akibat pengeluaran air yang berhubungan dengan pembentukan kristal-kristal (Toelihere, 1993).

2.9. Fruktosa

Fruktosa adalah gula utama yang terdapat dalam plasma semen yang diproduksi oleh vesikula seminalis dan penting bagi metabolisme dan motilitas spermatozoa (Assumpcao et al, 2005). Fruktosa merupakan turunan karbohidrat dalam bentuk gula sederhana (monosakarida) yang ditemukan di banyak jenis makanan dan merupakan salah satu dari tiga gula darah penting bersama dengan glukosa dan galaktosa. Fruktosa sebagai ketoheksosa mengandung enam karbon dan mengandung gugus keton (Murray, 2003).



Gambar 2.3. Struktur kimia fruktosa (Murray, 2003)

Fruktosa adalah gula yang terdapat dalam semen dari segala jenis hewan ternak dan manusia. Konsentrasi fruktosa dalam semen sapi tinggi dan merupakan makanan utama bagi spermatozoa. Semen mengandung sampai setinggi 1% fruktosa (Salisbury dan Van Denmark, 1995).

Kadar fruktosa didalam sekresi vesikula seminalis adalah 840 mg/100 ml dan sekali-kali melebihi 1 gram/100ml. Kadar fruktosa dalam semen sapi berbeda-beda. Kadar fruktosa berkisar dari 736 mg/100 ml sampai dengan 1062 mg/100 ml (rata-rata 683 mg/100 ml). Rata-rata kadar fruktosa untuk sapi jantan dari tujuh bangsa sapi yang berbeda berkisar dari 350 mg/100 ml sampai 610mg/100 ml. Fruktosa yang dibentuk di dalam vesikula seminalis sapi jantan berasal dari glukosa darah (Salisbury dan Van Denmark, 1995).

Fruktosa merupakan sumber energi untuk mendukung motilitas dan ketahanan hidup spermatozoa. Energi yang digunakan untuk motilitas spermatozoa berasal dari perombakan *adenosin triphosphat* (ATP) di dalam

selubung mikondria melalui reaksi penguraiannya menjadi adenosin diphosphat (ADP) dan adenosin monophosphat (AMP). Apabila pemberian energi berupa senyawa phosphor (P~P) di dalam ATP dan ADP habis, kontraksi spermatozoa akan berhenti dan tidak bergerak, sehingga untuk menjaga motilitas ATP dan ADP harus dibangun kembali. Membangun kembali ATP dari ADP atau ADP dari AMP adalah dengan penambahan gugus phosphoryl yang dapat diperoleh dari karbohidrat dan lemak (Toelihere, 1993). Pemecahan fruktosa oleh spermatozoa untuk mendapatkan energi dapat terjadi tanpa oksigen (anaerob) dan dengan oksigen (aerob). Dalam kondisi anaerob, spermatozoa mengandalkan metabolisme karbohidrat sebagai sumber energi utamanya. Energi tambahan diperoleh dalam kondisi anaerob, yaitu melalui oksidasi asam laktat menjadi karbondioksida dan air (Toelihere, 1993).

BAB 3 MATERI DAN METODE

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Semen Beku Taman Ternak Pendidikan (*Teaching Farm*) Gresik yang dimulai pada bulan Januari 2009 sampai bulan Februari 2009.

3.2. Materi Penelitian

3.2.1. Hewan Penelitian

Dalam penelitian ini digunakan sampel semen yang berasal dari satu ekor sapi FH jantan berumur tiga tahun. Secara klinis sapi FH jantan dinyatakan sehat, alat kelamin normal dan libido baik.

3.2.2. Bahan Penelitian

Penelitian ini menggunakan semen sapi FH jantan, susu *skim*, fruktosa, glukosa, gliserol, streptomisin sulfat (meiji), penisillin (G-meiji), susu skim (carnation), kuning telur, alkohol, *Eosin Negrosin*, NaCl fisiologis, gliserol, vaselin, straw dan N₂ cair.

3.2.3. Peralatan Penelitian

Alat yang dipergunakan pada penelitian ini adalah: vagina tiruan dengan tabung penampung berskala, spektrofotometer, *waterbath*, mikroskop, gelas obyek, gelas penutup, tabung reaksi, rak tabung, erlenmeyer, gelas beker, gelas

ukur, api bunsen, kertas pH, termometer, spatula, pipet penghisap, timbangan, *cool top, filling and sealing machine*, kontainer dan rak pembekuan.

3.3. Metode Penelitian

3.3.1. Prosedur Kerja

3.3.1.1. Penampungan Semen Sapi FH

Penampungan semen sapi FH dilakukan dengan vagina tiruan. Kelebihan metode vagina tiruan ini adalah pelaksanaannya tidak rumit, semen yang dihasilkan maksimal. Metode vagina tiruan ini merupakan modifikasi dari perkawinan alam. Sapi pejantan dibiarkan menaiki hewan pemancing berupa jantan lainnya. Ketika sapi pejantan tersebut sudah menaiki pemancing dan mengeluarkan penisnya, penis tersebut segera diblokkan arahnya menuju mulut vagina tiruan dan dibiarkan ejakulasi di dalam vagina tiruan yang dikondisikan menyerupai kondisi (terutama aspek temperatur dan kekenyalan) vagina sebenarnya (Kartasudjana, 2001).

3.3.1.2. Evaluasi Awal Makroskopis

Evaluasi makroskopis meliputi : volume, bau, warna, kekentalan dan pH (Direktorat Jendral Peternakan, 2007).

3.3.1.3. Evaluasi Awal Motilitas Spermatozoa

Evaluasi awal motilitas spermatozoa dilakukan sebelum pengenceran. Hal ini penting untuk penentuan kelayakan semen untuk diproses lebih lanjut menjadi semen beku.

Evaluasi awal motilitas spermatozoa dilakukan dengan menggunakan larutan NaCl fisiologis yang diteteskan di atas gelas obyek kemudian ditambahkan satu tetes semen dan diaduk hingga homogen. Setelah gelas obyek ditutup dengan gelas penutup, dilakukan pemeriksaan gerakan individu dengan mikroskop optik melalui pembesaran 400 X (Direktorat Jendral Peternakan, 2007).

3.3.1.4. Evaluasi Awal Persentase Hidup Spermatozoa

Evaluasi awal persentase hidup spermatozoa dilakukan sebelum pengenceran. Hal ini penting untuk mendukung kelayakan semen untuk diproses lebih lanjut menjadi semen beku.

Evaluasi awal persentase hidup spermatozoa dilakukan dengan cara meletakkan satu tetes pewarna *Eosin Negrosin* dan satu tetes semen di atas gelas obyek. Setelah keduanya dicampur kemudian dibuat preparat ulas dan difiksasi di atas api bunsen. Penghitungan spermatozoa dilakukan dengan mikroskop optik melalui pembesaran 400 X. Spermatozoa yang hidup ditandai dengan kepalanya yang berwarna putih. Spermatozoa yang mati ditandai dengan kepalanya yang berwarna merah (Muhammadrizal, 2005).

3.3.1.5. Pembuatan *Buffer* Antibiotik

Prosedur pembuatan *buffer* antibiotika adalah sebagai berikut (untuk 1.000 cc) : susu *skim* 100 gram dihomogenkan dengan *aquabides* 960 cc di dalam *bowling glass*, kemudian dimasukkan ke dalam *water bath* sampai suhu 92°-95° C, kemudian diangkat dan didinginkan sampai suhunya mencapai 37° C, kemudian *buffer* ditambahkan antibiotik dengan perbandingan 100 : 1. antibiotik yang digunakan adalah penisilin 1.000 IU/ml pengencer dan streptomisin 1 mg/ml pengencer (Direktorat Jendral Peternakan, 2000).

3.3.1.6. Pembuatan Pengencer A Organik

Pengencer A organik (untuk 1.000 cc) dibuat dengan mencampur 950 cc *buffer* antibiotik dengan 50 cc kuning telur (Direktorat Jendral Peternakan, 2000).

3.3.1.7. Pembuatan Pengencer B Organik

Pengencer B organik (untuk 1.000 cc) dibuat dengan mencampur 770 cc *buffer* antibiotik, dengan 160 cc gliserol, 50 cc kuning telur dan 20 gram glukosa (Direktorat Jendral Peternakan, 2000).

3.3.2. Pembekuan Semen

3.3.2.1. Pengenceran Semen

Volume semen yang digunakan dalam penelitian ini adalah 1 ml setiap perlakuan. Banyaknya pengenceran ditentukan dengan menggunakan *spectrofotometer Mini Tube SDM5*. Volume semen 1 ml ditambahkan pengencer

A organik 1 ml yang telah disiapkan dalam *water bath* yang suhunya 37 ° C. Masing-masing semen sapi yang telah diencerkan dengan pengencer A organik pada perlakuan P0, P1 dan P2 bersama pengencer B organik didinginkan pada suhu 3 ° C sampai dengan 5° C di dalam *cool top* selama 1-1,5 jam. Kemudian dilakukan pencampuran antara semen yang telah ditambah pengencer A dengan pengencer B organik secara bertahap dan perlahan-lahan melalui dinding tabung. Proses ini dinamakan gliserolisasi dan lamanya selama 1-1,5 jam. Proses equilibrasi dilakukan setelah gliserolisasi yaitu pada suhu 5 ° C selama 1-1,5 jam. Banyaknya pengenceran semen juga dapat ditentukan dengan penghitungan Direktorat Jendral Peternakan (2000) yaitu sebagai berikut :

$$\text{Jumlah } \textit{straw} : \frac{\text{volume semen X konsentrasi semen X \% motilitas}}{\text{konsentrasi semen dalam } \textit{straw}}$$

Volume akhir (VA) : jumlah *straw* X volume *straw*

Pengencer A : pengencer B – volume semen

Pengencer B : VA/2

3.3.2.2. Evaluasi *Before Freezing*

Setelah proses pengenceran selesai, maka dilakukan evaluasi secara mikroskopis kembali terhadap motilitas dan persentase hidup spermatozoa dengan nilai motilitas spermatozoa minimal 60%, sebagai nilai batas untuk dapat dilanjutkan ke dalam proses *freezing* (Direktorat Jendral Peternakan, 2007).

3.3.2.3. Filling dan Sealing

Filling dan *sealing* dilakukan di dalam *cool top* yang bersuhu 3-5° C dalam *ultra sonic filling sealing machine* (Direktorat Jendral Peternakan, 2007).

3.3.2.4. Before Freezing

Before freezing dilakukan dengan cara meletakkan *straw* 2 - 4 cm di atas permukaan N₂ cair -140° C selama 9 menit (Direktorat Jendral Peternakan, 2007).

3.3.2.5. Freezing

Freezing dilakukan dengan menenggelamkan *straw* ke dalam N₂ cair -196° C (Direktorat Jendral Peternakan, 2007).

3.3.2.6. Post Thawing Motility

Post thawing motility dilakukan segera setelah dilakukan *freezing*. Semen beku yang akan diperiksa terlebih dahulu di *thawing* yaitu dengan cara dimasukkan ke dalam *water bath* yang bersuhu 37°C - 38° C selama 15 detik – 30 detik. Gunting kemasan semen beku pada ujung dan juga sedikit pada bagian tengahnya supaya semen bisa menetes keluar, kemudian diteteskan (satu tetes) ke gelas obyek yang telah dibersihkan dengan alkohol 70% kemudian diperiksa motilitas spermatozoa (Direktorat Jendral Peternakan, 2007).

3.3.2.7. Persentase Hidup Spermatozoa *Post Thawing*

Persentase hidup *post thawing* dilakukan segera setelah dilakukan *freezing*. Semen beku yang akan diperiksa terlebih dahulu di *thawing* yaitu dengan cara dimasukkan di dalam *water bath* yang bersuhu 37° C-38° C selama 15 detik – 30 detik. Gunting kemasan semen beku pada ujung dan juga sedikit pada bagian tengahnya supaya semen bisa menetes keluar, kemudian diteteskan (1 tetes) ke gelas obyek yang telah dibersihkan dengan alkohol kemudian diperiksa persentase hidup spermatozoa (Direktorat Jendral Peternakan, 2007).

3.3.3. Perlakuan

1. Kontrol (P0) terdiri dari pengencer A organik tanpa fruktosa.
2. Perlakuan 1 (P1) terdiri dari pengencer A organik ditambah fruktosa 1%.
3. Perlakuan 2 (P2) terdiri dari pengencer A organik ditambah fruktosa 2%.

3.3.4. Variabel Penelitian

3.3.4.1. Variabel Bebas

Penambahan fruktosa 1% dan 2%.

3.3.4.2. Variabel Tergantung

Motilitas dan persentase hidup spermatozoa.

3.3.4.3. Variabel Kendali

1. Spesies hewan.

2. Jenis kelamin.
3. Umur.
4. Pakan.
5. Lingkungan.

3.3.4.4. Definisi Operasional

1. Penambahan fruktosa 1% dan 2% ke dalam pengencer A organik adalah berat/volume.
2. Evaluasi motilitas spermatozoa dengan melihat spermatozoa bergerak aktif ke depan (*progresif*).
3. Evaluasi persentase hidup spermatozoa menggunakan pewarna *Eosin Negrosin*. Spermatozoa yang hidup ditandai dengan kepalanya yang transparan, sedangkan spermatozoa yang mati ditandai dengan kepalanya yang berwarna merah.
4. Semen diambil dari satu ekor sapi jantan FH yang berumur tiga tahun yang pemberian pakannya setiap hari secara teratur dan lingkungan sekitar untuk pemeliharaan sapi jantan FH normal.

3.4. Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan delapan ulangan. Penentuan ulangan berdasarkan rumus $t(n-1) \geq 15$ (Kusriningrum, 2008).

Data penelitian ini dianalisis dengan ANOVA menggunakan SPSS (*Statistical Packed for Social Science*) yang akan dilanjutkan dengan uji jarak Duncan (Kusriningrum, 2008).



BAB 4 HASIL PENELITIAN

4.1. Evaluasi Awal Semen

Semen sebelum perlakuan perlu dilakukan evaluasi terlebih dahulu. Hal ini penting untuk penentuan kelayakan semen untuk diproses lebih lanjut menjadi semen beku dan untuk menentukan besarnya pengenceran.

Evaluasi semen sapi FH meliputi evaluasi secara makroskopis dan mikroskopis. Evaluasi makroskopis meliputi volume, bau, warna, konsistensi dan pH. Evaluasi mikroskopis meliputi gerakan massa, motilitas, persentase hidup dan konsentrasi.

Hasil evaluasi awal semen dapat dilihat pada Tabel 4.1 dan 4.2

Tabel 4.1. Hasil evaluasi awal semen sapi FH secara makroskopis

Penampungan Semen	Volume (ml)	Bau	Warna	Konsistensi	pH
1	12,00	Khas	Putih kuning	Kental	7
2	6,50	Khas	Putih kuning	Kental	7
3	8,50	Khas	Putih kuning	Kental	7
4	7,00	Khas	Putih kuning	Kental	7
5	7,10	Khas	Putih kuning	Kental	7
6	7,90	Khas	Putih kuning	Kental	7
7	6,40	Khas	Putih kuning	Kental	7
8	8,50	Khas	Putih kuning	Kental	7

Keterangan :

- Bau semen sapi khas seperti susu sapi (Hardijanto dkk, 2007).

Tabel 4.2. Hasil evaluasi awal semen secara mikroskopis

Penampungan semen	Gerakan massa	Motilitas (%)	Persentase hidup(%)	Konsentrasi (sel/ml)
1	++++	90	98,30	$0,579 \times 10^9$
2	+++	80	91,72	$0,545 \times 10^9$
3	+++	90	96,20	$0,613 \times 10^9$
4	+++	80	88,61	$0,687 \times 10^9$
5	++++	90	99,00	$0,555 \times 10^9$
6	++++	90	99,00	$0,755 \times 10^9$
7	++	80	90	$0,722 \times 10^9$
8	++++	90	99,00	$0,725 \times 10^9$

Keterangan :

Gerakan massa (Direktorat Jendral Peternakan, 2007) :

- ++ adalah gerakan massa sperma berupa gelombang-gelombang tipis, jarang dan sedang
- +++ adalah gerakan massa sperma berupa gelombang-gelombang tebal, gelap, cepat dan berpindah-pindah tempat
- ++++ adalah gerakan massa sperma berupa gelombang-gelombang tebal, gelap dan sangat cepat

4.2. Evaluasi Semen *Before Freezing*

4.2.1. Motilitas Spermatozoa

Rerata, hasil transformasi dan simpangan baku motilitas spermatozoa yang dievaluasi *before freezing* pada kelompok kontrol (P0) dan kelompok perlakuan penambahan fruktosa 1% (P1) dan penambahan fruktosa 2% (P2) dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3. Rerata motilitas dan simpangan baku spermatozoa *before freezing*.

perlakuan	Rerata motilitas dan simpangan baku spermatozoa <i>before freezing</i>
P1	75,00 ^a ± 3,49
P0	60,63 ^b ± 2,90
P2	56,25 ^b ± 4,43

Keterangan :

Superskrip dengan notasi yang berbeda berarti berbeda sangat nyata ($p < 0,01$).

Tabel 4.3 menunjukkan rerata motilitas spermatozoa setelah diberikan perlakuan dan dievaluasi *before freezing* menghasilkan motilitas spermatozoa yang berbeda. Tertinggi 75,00% pada P1 dan terendah 56,25% pada P2.

Hasil uji statistik dengan ANOVA pada lampiran 5 ternyata terdapat perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$) pada perlakuan terhadap motilitas spermatozoa *before freezing*.

Hasil uji jarak Duncan diperoleh hasil bahwa penambahan fruktosa 1% (P1) menunjukkan motilitas tertinggi 60,11, P0 yang tidak ditambahkan fruktosa didapatkan hasil yang lebih rendah 51,16, sedangkan motilitas terendah 48,60 didapatkan pada penambahan fruktosa 2% (P2).

4.2.2. Persentase Hidup Spermatozoa

Persentase hidup spermatozoa *before freezing* dapat dilihat pada tabel 4.4.

Tabel 4.4. Rerata dan simpangan baku persentase hidup spermatozoa *before freezing*.

Perlakuan	Rerata dan simpangan baku persentase hidup spermatozoa <i>before freezing</i>
P1	83,73 ^a ± 4,57
P0	70,35 ^b ± 3,22
P2	64,76 ^b ± 2,58

Keterangan :

Superskrip dengan notasi yang berbeda berarti berbeda sangat nyata ($p < 0,01$).

Tabel 4.4 menunjukkan persentase hidup spermatozoa setelah diberikan perlakuan dan dievaluasi *before freezing* menghasilkan jumlah yang berbeda. Tertinggi 83,73% pada P1 dan terendah 64,76% pada P2.

Hasil uji statistik dengan ANOVA pada lampiran 2 ternyata terdapat perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$) pada perlakuan terhadap persentase hidup spermatozoa *before freezing*.

Hasil uji jarak Duncan diperoleh hasil bahwa penambahan fruktosa 1% (P1) menunjukkan persentase hidup spermatozoa tertinggi 66,49, P0 yang tidak ditambahkan fruktosa didapatkan hasil yang lebih rendah 57,07, sedangkan persentase hidup spermatozoa terendah 53,61 didapatkan pada penambahan fruktosa 2% (P2).

4.3. Evaluasi *Post Thawing*

4.3.1. Motilitas Spermatozoa

Hasil pemeriksaan motilitas spermatozoa *post thawing* dapat dilihat pada tabel 4.5.

Tabel 4.5. Rerata dan simpangan baku motilitas spermatozoa *post thawing*

Perlakuan	Rerata dan simpangan baku motilitas spermatozoa <i>post thawing</i>
P1	45,00 ^a ± 3,78
P0	39,38 ^b ± 3,20
P2	36,25 ^b ± 3,54

Keterangan :

Superskrip dengan notasi yang berbeda berarti berbeda sangat nyata ($p < 0,01$)

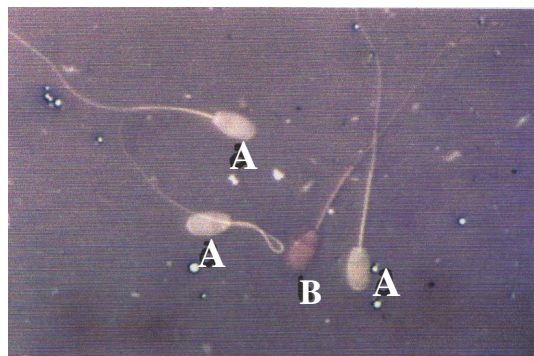
Tabel 4.3 menunjukkan motilitas spermatozoa setelah diberikan perlakuan dan dievaluasi *post thawing* menghasilkan motilitas spermatozoa yang berbeda. Tertinggi 45,00% pada P1 dan terendah 36,25% pada P2.

Hasil uji statistik dengan ANOVA pada lampiran 6 ternyata terdapat perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$) pada perlakuan terhadap motilitas spermatozoa *post thawing*.

Hasil uji jarak Duncan diperoleh hasil bahwa penambahan fruktosa 1% (P1) menunjukkan motilitas tertinggi 45,00, P0 yang tidak ditambahkan fruktosa didapatkan hasil yang lebih rendah 39,38, sedangkan motilitas terendah 36,25 didapatkan pada penambahan fruktosa 2% (P2).

4.2.2. Persentase Hidup Spermatozoa

Perbedaan gambaran spermatozoa hidup dan mati dapat dilihat pada gambar 4.4



Gambar 4.1. Perbedaan gambaran spermatozoa hidup dan mati dengan pewarnaan *Eosin Negosin*

Keterangan: (A) Spermatozoa yang hidup berwarna putih
(B) Spermatozoa yang mati berwarna merah

Rerata persentase hidup spermatozoa *post thawing* dapat dilihat pada tabel

4.6.

Tabel 4.6. Rerata dan simpangan baku persentase hidup spermatozoa *post thawing*

Perlakuan	Rerata dan simpangan baku persentase hidup spermatozoa <i>post thawing</i>
P1	54,58 ^a ± 6,05
P0	48,65 ^b ± 3,03
P2	43,66 ^c ± 3,62

Keterangan :

Superskrip dengan notasi yang berbeda berarti berbeda sangat nyata ($p < 0,01$).

Tabel 4.4 menunjukkan persentase hidup spermatozoa setelah diberikan perlakuan dan dievaluasi *post thawing* menghasilkan jumlah yang berbeda. Rerata tertinggi 54,58 pada P1 dan terendah 43,66 pada P2.

Hasil uji statistik dengan ANOVA pada lampiran 3 ternyata terdapat perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$) pada perlakuan terhadap persentase hidup spermatozoa *post thawing*.

Hasil uji jarak berganda Duncan diperoleh hasil bahwa penambahan fruktosa 1% (P1) menunjukkan persentase hidup spermatozoa tertinggi 54,58, P0

yang tidak ditambahkan fruktosa didapatkan hasil yang lebih rendah 48,65, sedangkan persentase hidup spermatozoa terendah 43,66 didapatkan pada penambahan fruktosa 2% (P2).



BAB 5 PEMBAHASAN

5.1. Evaluasi Awal Semen

Evaluasi awal semen sebelum proses pembekuan perlu dilakukan untuk menentukan semen tersebut layak atau tidak untuk diproses lebih lanjut menjadi semen beku dan untuk menentukan besarnya pengenceran. Evaluasi awal semen meliputi evaluasi makroskopis dan mikroskopis. Hasil evaluasi makroskopis semen sapi FH sebelum perlakuan dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Hasil evaluasi awal semen, volume semen perejakulasi dari 8 kali penampungan memberikan gambaran yang cukup baik, yaitu berkisar antara 6,4 ml sampai dengan 12,0 ml (Salisbury dan Van Denmark, 1995).

Evaluasi bau semen sapi didapatkan bau yang khas yaitu seperti air susu. Bau semen banyak dipengaruhi oleh cairan dari kelenjar pelengkap (Hardijanto dkk., 2007). Warna semen segar yang diperoleh dari evaluasi awal semen adalah normal, semen berwarna putih kekuningan dan putih krem. Warna semen putih atau keruh tergantung pada konsentrasi spermatozoanya. Semakin keruh biasanya jumlah spermatozoa permililiter semen itu semakin banyak. Warna krem tua atau kuning disebabkan oleh *riboflavin* (Hafez and Hafez, 2000).

Konsistensi semen sapi akan berbanding lurus dengan konsentrasi spermatozoa. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa konsistensi kental yang menunjukkan bahwa konsentrasi spermatozoa tinggi. Konsistensi dapat diperiksa dengan menggoyangkan tabung secara perlahan-lahan (Isnaini, 2003). pH 7

menunjukkan bahwa semen dalam keadaan normal (Direktorat Jenderal Peternakan, 2000).

Evaluasi mikroskopis tabel 4.2. adalah gerakan massa yang dievaluasi dari sampel semen mempunyai kecepatan antara ++ (dua) sampai ++++ (empat). Menurut Direktorat Jenderal Peternakan (2000) penilaian gerakan massa dinilai sebagai 0 bila tidak ada gerakan spermatozoa maupun gerak massa sperma, posisi satu yaitu gerakan massa sperma lemah, posisi dua yaitu gerakan massa sperma berupa gelombang tipis, jarang dan sedang, posisi tiga yaitu gerakan massa sperma berupa gelombang tebal, gelap, cepat dan berpindah-pindah tempat dan posisi empat yaitu gerakan massa sperma berupa gelombang tebal, gelap dan sangat cepat. Hasil evaluasi motilitas berkisar antara 80% - 90% yang berarti banyak spermatozoa yang bergerak progresif. Persentase hidup diperoleh 88,61% - 99% yang berarti banyak spermatozoa yang hidup pada evaluasi awal semen dan evaluasi konsentrasi spermatozoa diperoleh konsentrasi sebesar $0,545 \times 10^9$ sel/ml sampai dengan $0,755 \times 10^9$ sel/ml.

Hasil yang diperoleh dari evaluasi awal semen secara makroskopis dan mikroskopis semen memenuhi syarat untuk diproses lebih lanjut dan dilakukan pembekuan, hal ini sesuai dengan syarat-syarat pembuatan semen beku yaitu gerakan massa minimal positif dua, gerakan individu progresif $\geq 70\%$ dan konsentrasi spermatozoa minimal $0,500 \times 10^9$ sel/ml (Direktorat Jenderal Peternakan, 2007).

5.2. Evaluasi Semen *Before Freezing* dan *Post Thawing*

5.2.1. Motilitas Spermatozoa

Motilitas telah sejak lama dikenal sebagai alat untuk memindahkan spermatozoa melalui saluran reproduksi hewan betina. Alasan tersebut menunjukkan bahwa motilitas sangat berperan penting dalam fertilisasi (Salisbury and Van Denmark, 1995).

Energi yang langsung terpakai untuk pergerakan spermatozoa dihasilkan oleh serabut ekor berasal dari uraian ATP. Untuk membangun kembali ATP yang dipakai untuk pergerakan spermatozoa diperlukan sumber energi dari luar. Fruktosa yang terdapat di dalam plasma semen dipakai sebagai sumber energi untuk pergerakan spermatozoa (Salisbury and Van Denmark, 1995).

Hasil evaluasi *before freezing* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan jumlah spermatozoa yang motil pada masing-masing perlakuan. Penambahan fruktosa 1% (P1) yang ditambahkan saat pengenceran menunjukkan hasil yang tertinggi pada saat dilakukan evaluasi *before freezing* (tabel 4.3) yaitu P1 sebesar $75,00^a \pm 3,48$, P0 yang tidak ditambahkan fruktosa secara uji statistik menunjukkan hasil yang lebih rendah dari pada P1 sebesar $60,63^b \pm 2,90$, sedangkan hasil terendah pada P2 yang ditambahkan fruktosa 2% yaitu sebesar $56,25^b \pm 4,43$. Begitu pula motilitas tertinggi *post thawing* (tabel 4.5) adalah P1 sebesar $45,00^a \pm 3,78$, P0 lebih rendah sebesar $39,38^b \pm 3,20$, dan terendah pada P2 sebesar $36,25^b \pm 3,54$.

Fruktosa yang tersedia dalam pengencer A organik akan menyebabkan spermatozoa tetap bergerak, karena fruktosa berperan menghasilkan energi berupa

ATP yang mengandung fosfat anorganik kaya energi dan digunakan untuk kontraksi fibril serta menghasilkan gerak spermatozoa. Semakin banyak ATP yang terbentuk maka energi yang tersedia untuk pergerakan atau motilitas spermatozoa juga akan meningkat (Smith, 1991)

Pembentukan kembali ATP dapat terjadi tanpa oksigen bila disertai glycolysis dan respirasi. Ditinjau dari metabolisme spermatozoa, oksigen tidak merupakan unsur yang mutlak keberadaannya. Oksigen hanya diperlukan bila aktivitas metabolisme tidak dapat terjadi tanpa oksigen (Salisbury and Van Denmark, 1995).

Penambahan fruktosa 1% (P1) ke dalam pengencer A organik menunjukkan hasil yang tertinggi pada waktu evaluasi motilitas *before freezing*. P0 menunjukkan hasil yang lebih rendah dari pada P1. Sementara itu penambahan fruktosa 2% (P2) ke dalam pengencer A organik menunjukkan hasil terendah untuk motilitas *before freezing*. Hasil tersebut menunjukkan bahwa penambahan fruktosa (1%) ke dalam pengencer A organik memberikan sumber energi tambahan bagi spermatozoa yang ditunjukkan melalui tingginya angka motilitas spermatozoa *before freezing*. P0 menunjukkan hasil yang lebih rendah dari pada P1 disebabkan sumber energi yang digunakan untuk metabolisme spermatozoa hanya memakai fruktosa yang berasal dari semen secara alami sebelum penambahan glukosa pada waktu gliserolisasi. Penambahan fruktosa 2% ke dalam pengencer A organik menunjukkan motilitas terendah pada evaluasi *before freezing* dikarenakan memberikan sifat hipertonis pada lingkungan diluar spermatozoa, Sehingga cairan

di dalam spermatozoa akan keluar dan menyebabkan penurunan motilitas spermatozoa (Salisbury dan Van Denmark, 1995).

Pembekuan semen menyebabkan menurunannya kualitas spermatozoa, hal ini karena pada proses pendinginan dan pembekuan terjadi penurunan suhu yang drastis sehingga menyebabkan terjadinya *cold shock* yang dapat menyebabkan penurunan angka motilitas *post thawing*, meningkatkan angka kematian spermatozoa dan akhirnya menurunkan fertilitas spermatozoa (Toelihere, 1993). Penurunan jumlah motilitas spermatozoa akibat pembekuan semen dapat dilihat pada tabel 4.3 dan 4.5, dimana motilitas spermatozoa lebih tinggi *before freezing* daripada *post thawing*.

5.2.2 Persentase Hidup Spermatozoa

Salah satu indikator penting dalam menentukan kualitas semen selain motilitas spermatozoa adalah persentase hidup spermatozoa. Besarnya persentase hidup spermatozoa menunjukkan tingginya daya tahan hidup spermatozoa. Secara *in vivo* daya tahan hidup spermatozoa di dalam alat reproduksi betina merupakan modal dasar terjadinya fertilisasi. Begitu juga pada fertilisasi *in vitro*. Daya tahan hidup spermatozoa di dalam media biakan merupakan faktor yang penting untuk menjamin keberhasilan fertilisasi *in vitro* (Hernawati, 1998).

Spermatozoa dalam keadaan hidup atau mati dapat diketahui dengan menggunakan pewarnaan *Eosin Negrosin*. Prinsip pewarnaan spermatozoa adalah perbedaan afinitas menyerap warna antara spermatozoa yang hidup dan yang mati. Pada spermatozoa yang hidup tidak menghisap warna atau pada bagian

kepala spermatozoa akan transparan, sedangkan sel spermatozoa yang sudah mati akan menyerap warna dengan bagian kepala berwarna merah. Kondisi tersebut disebabkan karena pada spermatozoa yang sudah mati membran selnya tidak utuh sehingga memudahkan masuknya zat warna *Eosin Negrosin* (Madyawati, 2007).

Persentase hidup spermatozoa pada tabel 4.4 dan 4.6 menunjukkan jumlah yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan persentase motilitas spermatozoa pada tabel 4.3 dan 4.5. Hal ini dikarenakan banyak spermatozoa yang masih hidup tetapi tidak motil atau bergerak tidak progresif sehingga persentase hidup spermatozoa selalu lebih tinggi daripada persentase motilitas spermatozoa (Kostaman, 2006). Pendapat ini sesuai dengan pendapat Partodihardjo (1980) bahwa spermatozoa yang hidup belum tentu motil, sedangkan spermatozoa yang motil pasti hidup.

Penambahan fruktosa 1% P1 ke dalam pengencer A organik menunjukkan hasil tertinggi untuk persentase hidup *before freezing*. P0 menunjukkan hasil yang lebih rendah dari pada P1 untuk persentase hidup *before freezing*, sedangkan penambahan fruktosa 2% P2 ke dalam pengencer A organik menunjukkan hasil terendah untuk persentase hidup *before freezing*. Kenyataan tersebut membuktikan bahwa penambahan fruktosa 1% P1 ke dalam pengencer A organik memberikan sumber energi tambahan bagi spermatozoa yang ditunjukkan melalui tingginya angka persentase hidup spermatozoa *before freezing*. Penambahan fruktosa 2% ke dalam pengencer A organik memberikan sifat hipertonis pada lingkungan luar spermatozoa yang mengakibatkan cairan di dalam spermatozoa

keluar dan menyebabkan penurunan jumlah persentase hidup spermatozoa *before freezing* (Salisbury dan Van Denmark, 1995).

Persentase hidup spermatozoa *before freezing* tabel 4.4 lebih tinggi daripada *post thawing* tabel 4.6. Hal ini dikarenakan pada saat pembekuan spermatozoa harus berada dalam suhu yang turun drastis dari keadaan semula sehingga terbentuklah kristal es, terjadi penumpukan elektrolit dan bahan terlarut lainnya di dalam larutan atau sel-sel. Kristal es intraseluler tersebut dapat merusak spermatozoa secara mekanik. Konsentrasi elektrolit yang berlebihan akan melarutkan selubung lipoprotein membran spermatozoa dan waktu pencairan kembali (*thawing*), permeabilitas membran spermatozoa akan berubah dan akhirnya menyebabkan kematian spermatozoa (Toelihere, 1993).

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Penambahan fruktosa 1% ke dalam pengencer A organik dapat meningkatkan motilitas spermatozoa *post thawing* semen beku sapi FH, sedangkan penambahan fruktosa 2% ke dalam pengencer A organik tidak dapat meningkatkan motilitas spermatozoa *post thawing* semen beku sapi FH.
2. Penambahan fruktosa 1% ke dalam pengencer A organik dapat meningkatkan persentase hidup spermatozoa *post thawing* semen beku sapi FH, sedangkan penambahan fruktosa 2% ke dalam pengencer A organik tidak dapat meningkatkan persentase hidup spermatozoa *post thawing* semen beku sapi FH.

6.2. Saran

1. Disarankan penambahan fruktosa dalam bahan pengencer sebanyak 1%. Hal ini berdasarkan pada hasil penelitian rerata motilitas dan persentase hidup spermatozoa lebih tinggi pada penambahan fruktosa 1% jika dibandingkan dengan penambahan fruktosa 2%.
2. Dalam penelitian ini hanya sampai pada pemeriksaan motilitas dan persentase hidup spermatozoa *post thawing*, maka perlu adanya penelitian

lebih lanjut tentang fertilitas dari semen terhadap ovum dari sapi betina secara *in vivo* maupun *in vitro*.



RINGKASAN

Pada produksi semen beku sapi FH dengan pengencer organik diperlukan energi tambahan berupa glukosa yang terkandung di dalam pengencer B pada tahap gliserolisasi. Tahap gliserolisasi membutuhkan waktu 1-1,5 jam setelah penambahan pengencer A organik ke dalam semen (Direktorat Jendral Peternakan, 2007). Sebelum tahap gliserolisasi, semen secara alami mengandung 1% fruktosa sebagai sumber energi spermatozoa pada produksi semen beku sapi FH dengan pengencer organik (Salisbury dan Van Denmark, 1995).

Penambahan fruktosa 1% dan 2% ke dalam pengencer A organik sebagai sumber energi tambahan spermatozoa sebelum memasuki tahap gliserolisasi. Penambahan fruktosa 1% dan 2% ke dalam pengencer A organik diharapkan dapat meningkatkan angka motilitas dan persentase hidup spermatozoa *post thawing*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan fruktosa ke dalam pengencer A organik pada proses pembekuan semen sapi FH terhadap motilitas dan persentase hidup spermatozoa *post thawing*. Pada penelitian ini diharapkan dengan penambahan fruktosa dapat meningkatkan motilitas dan persentase hidup spermatozoa *post thawing*.

Peneliti menggunakan sampel semen sapi FH yang berumur tiga tahun tahun. Semen tersebut dibagi menjadi tiga perlakuan P0. masing-masing perlakuan terdiri dari 8 ulangan. Pemeriksaan motilitas dan persentase hidup spermatozoa dilakukan pada *before freezing* dan *post thawing*. Penelitian ini

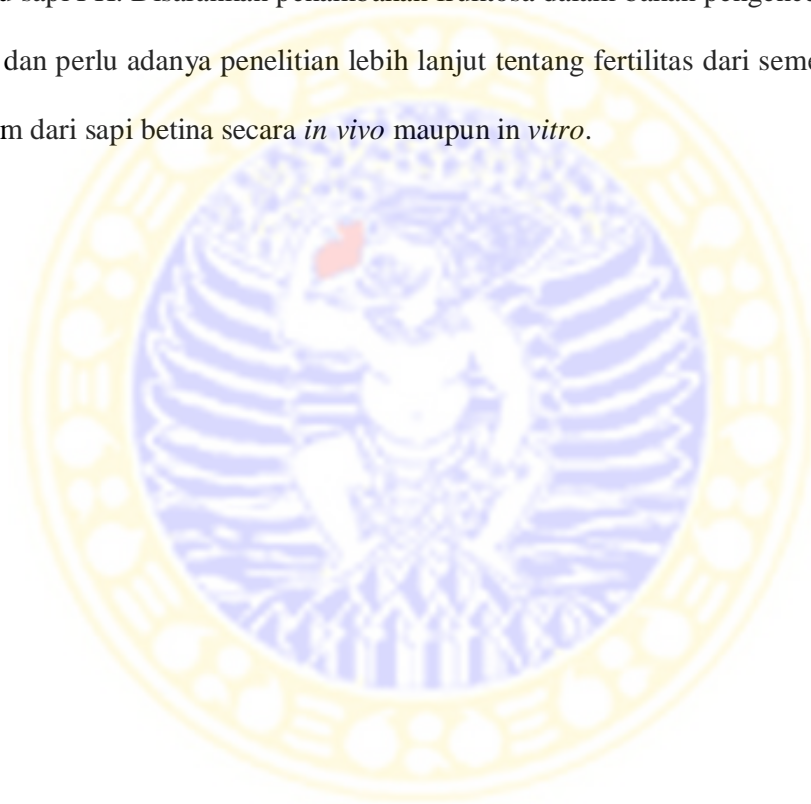
menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dan data penelitian ini dianalisis dengan ANOVA menggunakan SPSS (*Statistical Packed for Social Science*) yang akan dilanjutkan dengan uji jarak Duncan 5% (Kusriningrum, 2008).

Hasil penelitian terhadap motilitas dan persentase hidup spermatozoa pada perlakuan P0, P1 dan P2 yang dievaluasi *before freezing* maupun *post thawing* menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$).

Angka motilitas dan persentase hidup *before freezing* tertinggi didapatkan pada P1, hal ini dikarenakan spermatozoa mendapatkan sumber energi tambahan untuk metabolisme. P0 menunjukkan motilitas dan persentase hidup lebih rendah dari pada P1 disebabkan sumber energi yang digunakan untuk metabolisme spermatozoa hanya memakai fruktosa yang berasal dari semen secara alami sebelum penambahan glukosa pada waktu gliserolisasi. Penambahan fruktosa 2% ke dalam pengencer A organik menunjukkan motilitas terendah pada evaluasi *before freezing* dikarenakan memberikan sifat hipertonis pada lingkungan diluar spermatozoa, Sehingga cairan di dalam spermatozoa akan keluar dan menyebabkan penurunan motilitas dan persentase hidup spermatozoa

Persentase motilitas dan persentase hidup spermatozoa yang dievaluasi *post thawing* menunjukkan adanya penurunan jika dibandingkan dengan Persentase motilitas dan persentase hidup spermatozoa yang dievaluasi *before freezing*. Proses pembekuan menyebabkan terjadinya penurunan kualitas semen, hal ini karena pada proses pendinginan dan pembekuan terjadi penurunan suhu yang drastis sehingga menyebabkan terjadinya *cold shock* yang dapat menyebabkan penurunan persentase motilitas dan persentase hidup *post thawing*.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh kesimpulan bahwa penambahan fruktosa 1% ke dalam pengencer A organik dapat meningkatkan motilitas dan persentase hidup spermatozoa *post thawing* semen sapi FH, sedangkan penambahan fruktosa 2% ke dalam pengencer A organik tidak dapat meningkatkan motilitas dan persentase hidup spermatozoa *post thawing* semen beku sapi FH. Disarankan penambahan fruktosa dalam bahan pengencer sebanyak 1% dan perlu adanya penelitian lebih lanjut tentang fertilitas dari semen terhadap ovum dari sapi betina secara *in vivo* maupun *in vitro*.



DAFTAR PUSTAKA

- Andrews, A. H. 2002. The Health of Dairy Cattle. Black Well Publishing Company. Iowa. 46.
- Assumpcao, T.I., R.A.A. Tores Junior., M.V. Sausa and C.A.O. Ricart. 2005. Correlation Between Fertility and Levels of Protein, Sugar and Free Amino Acids in Seminal Plasma of Nelore Bulls. www.Scielo.br/pdf/abmvz/v057nl/ao8v5. [20 September 2008]
- Departemen Pertanian. 2000. Pemeliharaan Sapi Perah. Departemen Pertanian Balai Informasi Pertanian. Unggaran.
- Direktorat Jendral Peternakan. 2007. Petunjuk Teknis Produksi dan Distribusi Semen Beku. Departemen Pertanian. Jakarta. 15-21.
- Direktorat Jendral Peternakan. 2000. Prosedur Tetap (Protap) Produksi dan Distribusi Semen Beku. Departemen Pertanian. Jakarta. 8-40.
- Evarini, A. 2006. Gali Soal Spermatozoa Lebih Dalam. www.hypnobirthing.web.id/?p=160. [10 September 2008]
- Hafez, E.S.E and B. Hafez. 2000. Reproduction in Farm Animal 7th edition Ed. Lippincott Williams and Wilkins. South Carolina. 3-173.
- Hardijanto., T. Sardjito., T. Hernawati., S. Susilowati dan TW. Suprayogi. 2007. Penuntun Praktikum Fisiologi dan Teknologi Reproduksi (IB). Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Hardijanto dan S. Hardjopranojoto. 1994. Ilmu Inseminasi Buatan. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Hardjopranojoto. 1995. Ilmu Kemajiran pada Ternak. Airlangga University Press. Surabaya. 61-64.
- Hernawati, T. 1998. Peranan Heparin dan Hipotaurin dalam Media Kapasitasi terhadap Persentase Hidup dan Motilitas Spermatozoa dan Pembuahan Invitro pada Sapi Perah [Tesis]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Isnaini. N. 2003. Pengaruh Kuning Telur dalam Pengencer Sari Buah Pisang terhadap Kualitas Semen Kambing PE pada Penyimpanan Dingin. PROTEIN. Jurnal Ilmiah Ilmu Peternakan dan Perikanan. Fakultas Peternakan dan Perikanan. Universitas Muhammadiyah Malang. Malang.

- Ismudiono. 1999. Fisiologi dan Teknologi Reproduksi Hewan Betina Domestik. Fakultas Kedokteran. Hewan Universitas Airlangga. Surabaya. 153.
- Ismudiono. 2004. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya. 7-8, 12, 21.
- Kartasudjana. 2001. Teknik Inseminasi Buatan Pada Ternak. Departemen Pendidikan Nasional. 2000.
- Kostaman, T dan I.K. Utama. 2006. Studi Motilitas dan Daya Hidup Spermatozoa Kambing Boer pada Pengencer Tris-Sitrat-Fruktosa. Jurnal Sain Veteriner. Volume 24. No 1. 58-62.
- Kusriningrum. 2008. Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acap Lengkap. Universitas Airlangga. Surabaya. 56-98.
- Muhhammadrizal. 2005. Pengaruh Waktu Penyimpanan Epididimis pada Suhu 5° C Terhadap Kualitas Spermatozoa Epididimis Domba Garut. www.simtenikle.org/Veteriner/Jurnal-Veteriner-Veterinary-Journal-Fakultas-Kedokteran-Hewan-14250. [6 September 2008]
- Madyawati, S.P. 2007. Suplementasi Tirosin Kinase Spermatozoa Sapi Friesian Holstein (FH) terhadap Kualitas Semen Beku [Disertasi]. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Mulyadi, A. 2007. Manajemen Perkawinan Sapi Potong. Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan. Pasuruhan.
- Murray, R .K., Granner, D.K., Mayes, P.A., Rodwell, V.W. 2003. Biokimia Harper. Edisi 25. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Na'im, Rochman. 1996. Aktivitas Antimikroba Plasma Semen. www.kalbe.co.id/.../files/08AktivitasAntimikrobaPlasmaSemen112.pdf/08AktivitasAntimikrobaPlasmaSemen112.html - 31k. [6 September 2008].
- Norman, H. D., R.L. Powell.J.R.Wright, and C.G.Sattler. 2003. Times Liness and Effectiveness of Progeny Testing Throuhgt Artificial Insemination. <http://jds.fass.org/cgicontent/abstract.86/4/1513>. [6 september 2008]
- Ombakkuta, A. 20007. Anatomi dan Fungsi Reproduksi Hewan Jantan. www.one.indoskripsi.com/click/241/0. [5 Oktober 2008]
- Partodihardjo,S. 1980. Ilmu Reproduksi Hewan. Mutiara Sumber Widya jakarta. Jakarta. 522.

- Patton, D. A. Kenny, S. McNamara, J. F. Mee, F. P. O'Mara, M. G. Diskin, and J. J. Murphy. 2007. Relationships Among Milk Production, Energy Balance, Plasma Analytes, and Reproduction in Holstein-Friesian Cows. *J. Dairy Sci.* 90:649–658.
- Salisbury, G.W and N.C. Van Demark. 1995. *Physiologi of Reproduction and Artificial Insemination of Cattle* W. H. Freeman and Company. San Francisco. 216-317.
- Situmorang, P. 2004. Prospek Penggunaan Semen Dingin (Chilled Semen) dalam Usaha Meningkatkan Produksi Sapi Perah. <http://www.balitnak.litbang.deptan.go.id/mod.php>. [19 Februari 2008].
- Smith. J. F., C. P. Merilan. 1991. Liner Collection and Acrosomes Cone and pH Effects on Postthaw Motility, Staining, of Bovine Spermatozoa. Department of Dairy Science. University of Missouri. Columbia. 66:211.
- Soetarno. T. 2003. *Manajemen Ternak Perah*. Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Susilawati. T. 2005. Tingkat Keberhasilan Kebuntingan dan Ketepatan Jenis Kelamin Hasil Inseminasi Buatan Menggunakan Semen Beku *Sexing* pada Sapi Peranakan Ongole. *Jurnal Produksi Ternak*. Volume 7. No 3. 164.
- Syarief. M.Z. dan R.M. Sumoprastowo. 1984. *Ternak Perah*, edisi ke- 1. CV. Yasaguna. Jakarta.
- Tanaka, H., Herliantien., E. Herwiyanti., O.P. Lubis., Buwono dan J.Pujianto. 2002. *Reproduksi Klinik. The Aftercare Technical Cooperation for The Strengthening of Artificial Insemination Center Project*. Japan Internasional Cooperation Agency. 2.
- Toelihere, M.R. 1993. *Inseminasi Buatan pada Ternak*. Angkasa Bandung. Bandung. Indonesia.76-98.
- Tomaszewska, M.W., I.K. Utama., I.G. Putu dan T.D. Chaniago. 1991. *Reproduksi, Tingkah Laku dan Produksi Ternak di Indonesia*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 8.
- Widayati, D.T. 2005. *Alat Reproduksi Sapi Jantan*. <http://www.Dt.widayati.net/course>. [04 Mei 2008]

Lampiran 1 Data persentase hidup spermatozoa setelah dievaluasi beserta hasil transformasinya

Summarize

Case Summaries^a

		Persen Hdp SblP (ypb)	Arc.SinVypb%	Persen Hdp SsdP (ypa)	
Perlakuan	P0	1	71.2	57.54	47.52
		2	66.2	54.45	44.23
		3	74.4	59.60	47.10
		4	68.1	55.61	50.21
		5	67.4	55.18	48.38
		6	78.8	62.58	51.10
		7	63.2	52.65	46.66
		8	73.4	58.95	54.00
	Total	N	8	8	8
		Sum	562.8	456.56	389.20
		Mean	70.346	57.0700	48.6500
		Std. Deviation	5.0854	3.22093	3.03097
	P1	1	83.6	66.11	55.00
2		82.4	65.20	57.10	
3		87.1	68.95	61.10	
4		83.4	65.96	56.72	
5		82.6	65.35	42.82	
6		90.8	72.34	56.18	
7		70.8	57.29	48.35	
8		89.1	70.72	59.40	
Total		N	8	8	8
		Sum	669.8	531.92	436.67
		Mean	83.728	66.4900	54.5838
		Std. Deviation	6.1015	4.57003	6.05357
P2		1	67.4	55.18	42.13
	2	62.1	52.00	41.40	
	3	69.1	56.20	48.45	
	4	60.3	50.94	39.22	
	5	59.0	50.18	40.91	
	6	68.0	55.55	46.81	
	7	62.3	52.12	42.08	
	8	69.9	56.72	48.31	
	Total	N	8	8	8
		Sum	518.1	428.89	349.31
		Mean	64.756	53.6113	43.6638
		Std. Deviation	4.3041	2.57223	3.61959
	Total	N	24	24	24
Sum		1750.6	1417.37	1175.18	
Mean		72.943	59.0571	48.9658	
Std. Deviation		9.5368	6.51407	6.22310	

^a. Limited to first 100 cases.

Lampiran 2. Anova persentase hidup spermatozoa setelah penambahan fruktosa
before freezing

Oneway, Data Asli

Descriptives

Persen Hdp SblP (ypb)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Minimum	Maximum
P0	8	70.346	5.0854	1.7980	63.2	78.8
P1	8	83.728	6.1015	2.1572	70.8	90.8
P2	8	64.756	4.3041	1.5217	59.0	69.9
Total	24	72.943	9.5368	1.9467	59.0	90.8

Oneway, Transformasi

Descriptives

Arc.Sin Vypb%

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Minimum	Maximum
P0	8	57.0700	3.22093	1.13877	52.65	62.58
P1	8	66.4900	4.57003	1.61575	57.29	72.34
P2	8	53.6113	2.57223	.90942	50.18	56.72
Total	24	59.0571	6.51407	1.32968	50.18	72.34

ANOVA

Arc.Sin Vypb%

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	710.831	2	355.415	28.151	.000
Within Groups	265.131	21	12.625		
Total	975.962	23			

Post Hoc Tests

Arc.Sin Vypb%

Duncan^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
P2	8	53.6113	
P0	8	57.0700	
P1	8		66.4900
Sig.		.065	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

Lampiran 3. Anova persentase hidup spermatozoa setelah penambahan fruktosa
post thawing

Oneway, Data Asli

Descriptives

Persen Hdp SsdP (ypa)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Minimum	Maximum
P0	8	48.6500	3.03097	1.07161	44.23	54.00
P1	8	54.5838	6.05357	2.14026	42.82	61.10
P2	8	43.6638	3.61959	1.27972	39.22	48.45
Total	24	48.9658	6.22310	1.27028	39.22	61.10

ANOVA

Persen Hdp SsdP (ypa)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	478.183	2	239.091	12.171	.000
Within Groups	412.537	21	19.645		
Total	890.720	23			

Post Hoc Tests

Persen Hdp SsdP (ypa)

Duncan^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
P2	8	43.6638		
P0	8		48.6500	
P1	8			54.5838
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

Lampiran 4. Data motilitas spermatozoa setelah dievaluasi beserta hasil transformasinya

Summarize

Case Summaries^a

			Motilitas SblP (ymb)	Arc.SinVymb%	Motilitas SsdP (yma)
Perlakuan	P0	1	65	53.73	40
		2	55	47.87	35
		3	65	53.73	40
		4	60	50.77	40
		5	55	47.87	40
		6	65	53.73	40
		7	55	47.87	35
		8	65	53.73	45
	Total	N	8	8	8
		Sum	485	409.30	315
		Mean	60.63	51.1625	39.38
		Std. Deviation	4.955	2.90428	3.204
	P1	P1	1	75	60.00
2			70	56.79	45
3			80	63.44	50
4			75	60.00	45
5			75	60.00	40
6			80	63.44	45
7			65	53.73	40
8			80	63.44	50
Total		N	8	8	8
		Sum	600	480.84	360
		Mean	75.00	60.1050	45.00
		Std. Deviation	5.345	3.48527	3.780
P2		P2	1	60	50.77
	2		55	47.87	35
	3		60	50.77	40
	4		50	45.00	30
	5		50	45.00	35
	6		60	50.77	40
	7		55	47.87	35
	8		60	50.77	40
	Total	N	8	8	8
		Sum	450	388.82	290
		Mean	56.25	48.6025	36.25
		Std. Deviation	4.432	2.55850	3.536
	Total	N	24	24	24
	Sum	1535	1278.96	965	
	Mean	63.96	53.2900	40.21	
	Std. Deviation	9.438	5.79895	4.995	

^a. Limited to first 100 cases.

Lampiran 5. Anova motilitas spermatozoa setelah penambahan fruktosa before freezing

Oneway, Data Asli**Descriptives**

Motilitas SblP (ymb)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Minimum	Maximum
P0	8	60.63	4.955	1.752	55	65
P1	8	75.00	5.345	1.890	65	80
P2	8	56.25	4.432	1.567	50	60
Total	24	63.96	9.438	1.927	50	80

Oneway, Transformasi**Descriptives**

Arc.SinVymb%

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Minimum	Maximum
P0	8	51.1625	2.90428	1.02682	47.87	53.73
P1	8	60.1050	3.48527	1.23223	53.73	63.44
P2	8	48.6025	2.55850	.90457	45.00	50.77
Total	24	53.2900	5.79895	1.18371	45.00	63.44

ANOVA

Arc.SinVymb%

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	583.545	2	291.773	32.266	.000
Within Groups	189.895	21	9.043		
Total	773.440	23			

Post Hoc Tests

Arc.SinVymb%

Duncan^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
P2	8	48.6025	
P0	8	51.1625	
P1	8		60.1050
Sig.		.103	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

Lampiran 6. Anova motilitas spermatozoa setelah penambahan fruktosa
post thawing

Oneway

Descriptives

Motilitas SsdP (yma)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Minimum	Maximum
P0	8	39.38	3.204	1.133	35	45
P1	8	45.00	3.780	1.336	40	50
P2	8	36.25	3.536	1.250	30	40
Total	24	40.21	4.995	1.020	30	50

ANOVA

Motilitas SsdP (yma)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	314.583	2	157.292	12.735	.000
Within Groups	259.375	21	12.351		
Total	573.958	23			

Post Hoc Tests

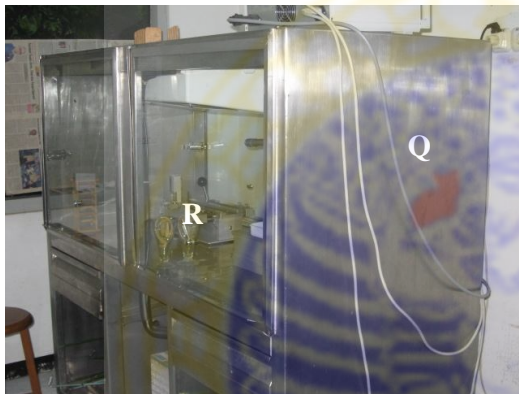
Motilitas SsdP (yma)

Duncan^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
P2	8	36.25	
P0	8	39.38	
P1	8		45.00
Sig.		.090	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.



Lampiran 7. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian

Keterangan:

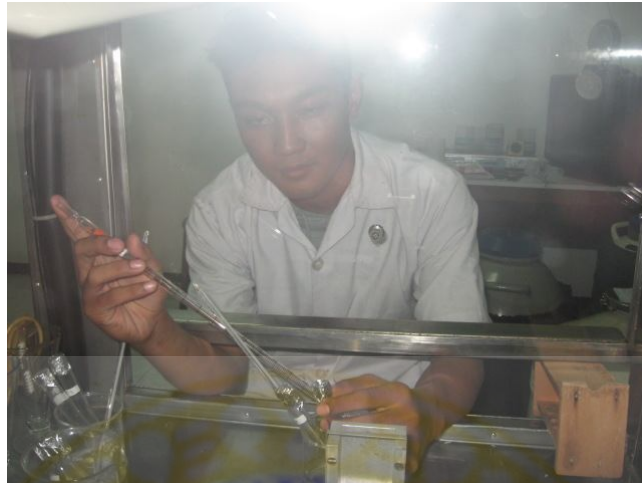
- | | | | | | |
|----|------------------|----|------------------------------------|----|-----------|
| A. | Spektrofotometer | J. | Api Bunsen | S. | Kontainer |
| B. | Mikroskop | K. | Kertas pH | | |
| C. | Gelas obyek | L. | Termometer | | |
| D. | Gelas penutup | M. | Spatula | | |
| E. | Tabung reaksi | N. | Pipet penghisap | | |
| F. | Rak tabung | O. | Timbangan | | |
| G. | Erlenmeyer | P. | <i>Water bath</i> | | |
| H. | Gelas beker | Q. | <i>Cool top</i> | | |
| I. | Gelas ukur | R. | <i>Filling and sealing machine</i> | | |



Lampiran 8. Sampel semen sapi FH yang digunakan



Lampiran 9. Fruktosa yang digunakan dalam penelitian



Lampiran 10. Proses Gliserolisasi





Lampiran 11. Evaluasi motilitas dan persentase hidup spermatozoa

