ADLN - Perpustakaan Universitas Airlangga

SKRIPSI

PENGARUH WAKTU EKUILIBRASI GLISEROL TERHADAP KUALITAS SEL SPERMATOZOA SAPI BRAHMAN DALAM PENGENCER TRIS KUNING TELUR SETELAH DIBEKUKAN

Oleh :

YUDHA ALFANDHI
SURABAYA – JAWA TIMUR

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2005

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

PENGARUH WAKTU EKUILIBRASI GLISEROL TERHADAP KUALITAS SEL SPERMATOZOA SAPI BRAHMAN DALAM PENGENCER TRIS KUNING TELUR SETELAH DIBEKUKAN

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan
Pada,
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh :

YUDHA ALFANDHI
NIM. 069812524

Mengetahui,

Komisi Pembimbing

Benyamin Chr Tehupuring, M.Si.,Drh Pembimbing Pertama	Prof. Dr. H. Sarmanu, M.S.,Drh Pembimbing Kedua

Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh – sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperolah gelar SARJANA KEDOKTERAN HEWAN ,

Menyetujui
Panitia Penguji,

Indah Norma Triana, M.Si., Drh
Ketua

Dr. Pudji Srianto, M.Kes., Drh
Sekretaris

Tjuk Imam Restiadi, M.Si., Drh
Anggota

Benyamin Chr Tehupuring, M.Si., Drh
Anggota

Prof. Dr. H. Sarmanu, M.S., Drh
Anggota

Surabaya, 8 Juli 2005

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,

Prof. Dr. Ismudiono, M.S., Drh
NIP 130 687 297

PENGARUH WAKTU EKUILIBRASI GLISEROL TERHADAP KUALITAS SEL SPERMATOZOA SAPI BRAHMAN DALAM PENGENCER TRIS KUNING TELUR SETELAH DIBEKUKAN

Yudha Alfandhi

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh waktu ekuilibrasi gliserol terhadap kualitas sel spermatozoa sapi Brahman dalam pengencer tris kuning telur setelah dibekukan.

Bahan penelitian yang digunakan adalah semen beku sapi Brahman sebanyak 24 *straw,* kemudian dibagi dalam empat perlakuan yang masing – masing terdiri dari enam buah *straw*. Kelompok kontrol (P0), semen dalam pengencer diekuilibrasi selama nol jam (tidak diekuilibrasi) , perlakuan satu (P1) selama dua jam, perlakuan dua (P2) empat jam, dan perlakuan tiga (P3) selama enam jam.

Pemeriksaan dilakukan terhadap kualitas sel spermatozoa meliputi motilitas dan persentase hidup sel spermatozoa. Pemeriksaan dilakukan setelah pembekuan dengan lama *thawing* tujuh detik.

Rancangan Percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak lengkap (RAL) . Data dianalisis dengan menggunakan *Analysis of Variance* (*ANAVA*). Jika berbeda nyata dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT 5%).

Hasil penelitian menunjukkan motilitas dan persentase hidup sel spermatozoa pada kelompok perlakuan berbeda secara nyata dengan kelompok kontrol ($p<0,05$).

UCAPAN TERIMA KASIH

Keberhasilan pembuatan semen beku sapi Brahman dengan menggunakan pengencer tris kuning telur tergantung pada beberapa faktor. Faktor yang mencolok adalah waktu ekuilibrasi gliserol sebelum dilakukan pembekuan

Serangkaian percobaan mengenai waktu ekuilibrasi gliserol dilakukan dan hasilnya dituangkan dalam tulisan ini. Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar – besarnya kepada :

1. Prof. Dr. Ismudiono, M.S., Drh, Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga yang berkenan memberikan ijin untuk melaksanakan penelitian.
2. Benyamin Christoffel Tehupuring, M.Si., Drh, selaku pembimbing pertama.
3. Prof. Dr. H. Sarmanu, M.S., Drh, selaku pembimbing kedua .
4. Indah Norma Triana M.Si., Drh, selaku ketua tim penguji.
5. Dr. Pudji Srianto, M.Kes., Drh, selaku sekretaris tim penguji.
6. Tjuk Imam Restiadi, M.Si., Drh, selaku anggota tim penguji.
7. Herliantien, Drh., Kepala Balai Inseminasi Buatan Singosari Malang .
8. Ayah dan Ibunda tercinta yang senantiasa memberikan nasehat terbaiknya untukku.
9. Istriku *Yulfia Lutfiani S.Hi* dan ananda *Shafa Irsyadi Hibban Alfandhi* yang dengan sabar dan setia memberikan dorongan semangat dan doa

yang selalu menyertai ayah dalam menyelesaikan studi dan penulisan penelitian ini.

Tak lupa penulis sampaikan terima kasih kepada Wawan, Heni, Sugeng, Edi, Soni dan semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu disini atas segala bantuan yang selama ini diberikan kepada penulis.

Penulis menyadari masih banyak terdapat kekurangan dan berharap adanya saran dan sumbangan pikiran dari para pembaca guna perbaikan tulisan ini. Semoga tulisan ini dapat bermanfaat bagi pembaca dan pihak – pihak yang memerlukan.

Surabaya, 8 Juli 2005

Penulis

DAFTAR ISI

halaman

DAFTAR TABEL x

DAFTAR GAMBAR xi

DAFTAR LAMPIRAN xii

BAB I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah 6

1.2. Rumusan Masalah 6

1.3. Landasan Teori 6

1.4. Tujuan Penelitian 7

1.5. Manfaat Penelitian 7

1.6. Hipotesis 7

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Sapi Brahman

2.1.1. Asal – usul Sapi Brahman 8

2.1.2. Klasifikasi Sapi Brahman 9

2.1.3. Morfologi Sapi Brahman 9

2.1.4. Pertumbuhan dan Perkembangan Sapi Brahman 11

2.1.5. Produktivitas Sapi Brahman 11

2.2. Sel Spermatozoa Sapi

2.2.1. Komposisi Sel Spermatozoa 13

2.2.2. Konsentrasi Sel Spermatozoa 14

2.2.4. Motilitas Sel Spermatozoa 14

2.3. Proses Metabolisme Sel Spermatozoa

2.3.1. Sumber Energi untuk Metabolisme Sel Spermatozoa 16

2.3.2. Metabolisme Sel Spermatozoa 16

2.4. Proses Pembekuan Semen

2.4.1. Bahan Pengencer dan Pengenceran 17

2.4.2. Gliserol 19

2.4.3. Waktu Ekuilibrasi 19

2.4.4. Penyimpanan di bawah Titik Beku 21

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian 22

3.2. Materi Penelitian

3.2.1. Hewan Penelitian 22

3.2.2. Bahan Penelitian 22

3.2.3. Alat Penelitian 22

3.3. Metode Penelitian

3.3.1. Persiapan Hewan Penelitian 23

3.3.2. Perlakuan Bahan Penelitian 24

3.3.3. Pemeriksaan Makroskopis 25

3.3.4. Pemeriksaan Mikroskopis 25

3.3.5. Pembuatan Semen Beku Tipe *Straw* 25

3.3.6. Pencairan Kembali Semen Beku 26

3.3.7. Variabel Penelitian 26

3.4. Peubah yang Diamati 27

3.5. Pemeriksaan Sel Spermatozoa 27

3.6. Rancangan Penelitian 28

3.7. Analisis Data 28

BAB IV. HASIL PENELITIAN

4.1. Motilitas Sel Spermatozoa 29

4.2. Persentase Hidup Sel Spermatozoa 30

BAB V. PEMBAHASAN 31

BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN 37

RINGKASAN 38

DAFTAR PUSTAKA..... 40

LAMPIRAN 47

DAFTAR TABEL

Tabel halaman

1. Ukuran beberapa bagian tubuh pejantan lokal di Indonesa 10
2. Karakteristik daging sapi Brahman 12
3. Volume dan konsentrasi semen beberapa jenis ternak 14
4. Motilitas sel spermatozoa sapi Brahman setelah dibekukan dalam persen terhadap waktu ekuilibrasi gliserol 29
5. Persentase hidup sel spermatozoa sapi Brahman setelah dibekukan dalam persen terhadap waktu ekuilibrasi gliserol 30

DAFTAR GAMBAR

Gambar halaman

1. Alat penelitian mikroskop cahaya, mikropipet, sentrifus 45

2. *Homogenizer* dan *Waterbath* 45

3. Spektrofotometer U-1500 HITACHI 45

4. Mesin *printing straw* 46

5. Mesin *filling and sealing straw* 46

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran halaman

1. Pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis semen segar sapi Brahman 47
2. Motilitas sel spermatozoa sapi Brahman (persen) setelah dibekukan ... 48
3. Persentase hidup sel spermatozoa sapi Brahman setelah dibekukan 49
4. Evaluasi statistik persentase motilitas sel spermatozoa sapi Brahman setelah dibekukan berdasarkan waktu ekuilibrasi gliserol dalam pengencer tris kuning telur pada akhir percobaan 50
5. Evaluasi statistik persentase hidup sel spermatozoa sapi Brahman setelah dibekukan berdasarkan waktu ekuilibrasi gliserol dalam pengencer tris kuning telur pada akhir percobaan 53
6. Pembuatan bahan pengencer 56
7. Prosedur pembuatan semen beku 59
8. Surat keterangan penelitian 60

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Sapi merupakan salah satu jenis ternak yang penting yang dipelihara manusia sebagai sumber kebutuhan daging, susu dan tenaga kerja (Pane,1993). Lebih dari 90 % budi daya sapi potong di Indonesia merupakan usaha peternakan rakyat (Azis,1993).

Pertumbuhan sapi potong dan perah secara nasional hanya sekitar 2 % per tahun sedangkan peningkatan kebutuhan masyarakat terhadap daging sapi mencapai 6,6 % pertahun (Anonim, 2004). Kebutuhan daging nasional dapat terpenuhi apabila produksi sapi potong terus dipacu dengan meningkatkan populasi maupun produktivitas sapi potong (Mathius,2003). Suplai daging secara nasional sekitar 40 % berasal dari hasil Inseminasi Buatan (Anonim,2004).

Produksi daging sapi terus mengalami peningkatan. Pada tahun 2002, dari sekitar 1,86 juta ton daging menjadi 1,9 juta ton pada tahun 2003. Keberhasilan IB di 30 propinsi menjadi pemicu peningkatan produksi daging sapi impor maupun lokal. Tahun 2003 disebut sebagai Tahun Kebangkitan Peternakan dan Kesehatan Hewan Indonesia. Melihat produksi daging dan hasil olahannya yang sangat pesat, diharapkan swasembada daging bisa tercapai pada tahun 2005 (Anonim, 2004).

PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA SURABAYA

Pengembangan usaha peternakan sapi potong merupakan usaha yang mempunyai prospek cerah dimasa mendatang. Hal ini didasarkan pada kenyataan bahwa laju pertambahan penduduk yang disertai dengan peningkatan kesadaran gizi telah mengakibatkan peningkatan permintaan daging dan susu segar serta produk hasil olahannya (Saraswati,1994).

Potensi peternakan di Indonesia cukup besar, sehingga pemerintah perlu untuk menerapkan dan mengembangkan teknik Inseminasi Buatan (IB). IB merupakan suatu cara yang digunakan manusia untuk meningkatkan populasi dan produktivitas ternak baik secara kualitatif dan kuantitatif (Toelihere,1986). IB tidak hanya meliputi disposisi semen ke dalam saluran reproduksi betina, tapi juga mencakup seleksi pejantan, penampungan semen, pengenceran semen, penyimpanan semen, inseminasi dan pencatatan IB (Salisbury dan Vandemark,1985).

Untuk mencapai hasil IB yang optimal pada ternak, perlu digunakan pejantan - pejatan unggul yang memiliki mutu genetik yang tinggi (Salisbury dan Vandemark,1985).

Peningkatan jumlah akseptor IB juga diikuti oleh penurunan angka *Service per Conception* (*S/C*) dari 1,6 menjadi 1,42 dan peningkatan angka *Conception Ratio* (*CR*) dari 62,68 % menjadi 72,71 % (Anonim,2004).

Indonesia memiliki dua Balai Inseminasi Buatan Induk di Lembang dan Singosari untuk memenuhi kebutuhan semen beku secara nasional. Selain dua BIB Induk terdapat pula 16 Balai Inseminasi Buatan Daerah (BIBD), 13 diantaranya beroperasi secara penuh yang terdapat di daerah – daerah yang

merupakan lumbung ternak. Total produksi semen beku dari 13 BIB Daerah mencapai 417.419 dosis dan semen segar mencapai 4937 dosis pada tahun 2003 (Anonim,2004).

Dari 422.356 dosis yang dihasilkan selama tahun 2003 umumnya didominasi oleh *straw* sapi impor. *Straw* sapi Limousine merupakan semen beku dengan permintaan paling banyak dari peternak kemudian diikuti oleh *straw* Simmental, *straw* FH, *straw* Brahman dan *straw* Ongole (Anonim,2004).

Produksi semen beku sapi Brahman di BIB Singosari pada tahun 2003 mencapai 110.974 dosis. Produksi semen beku sapi Ongole dalam tahun yang sama mencapai 65.112 dosis. Peternak di daerah lebih menyukai sapi Brahman karena memiliki banyak keunggulan dibandingkan dengan sapi Ongole maupun sapi impor (Anonim,2004).

IB memegang peranan penting di masa mendatang, terutama dalam pembangunan peternakan di Indonesia, dengan hasil yang lebih menguntungkan dibandingkan dengan kawin alam (Pane,1993). IB dapat dilakukan dengan menggunakan semen segar maupun semen beku (Arman dan Syahibuddin,1993). Bagi inseminator perlu memperhatikan empat hal penting yakni pengumpulan semen, pengenceran semen, pembekuan semen dan pencairan kembali semen beku (Pane,1993).

Keberhasilan teknik Inseminasi Buatan tidak lepas dari proses pembekuan semen yang dilaksanakan. Pada proses pembekuan semen, masalah yang sering timbul pada umumnya disebabkan oleh pengaruh kejutan dingin (*cold shock*) dan perubahan interseluler akibat pengeluaran air yang berhubungan dengan

pembentukan kristal es. Salah satu cara mengatasi masalah tersebut adalah dengan pemberian gliserol ke dalam media dan mencari waktu ekuilibrasi gliserol yang optimal sehingga hanya sedikit sel spermatozoa yang rusak selama proses pembekuan (Herdis,1999).

Penyimpanan semen dalam bentuk beku dapat menghambat dan hampir menghentikan proses metabolisme sel spermatozoa sehingga dapat disimpan melampaui umur ternak. Melalui IB dapat dimasukkan materi – materi genetik terseleksi yang berasal dari pejantan unggul, sehingga dapat memperbesar populasi dan produktivitas ternak sapi secara kualitatif dan kuantitatif (Arman dan Syahibuddin,1993).

Semen beku dapat diproduksi dalam beberapa bentuk antara lain ampul, *straw*, *pellet* dan kapsul tablet (Toelihere,1981). Dari empat bentuk di atas hanya bentuk *straw* yang dipakai untuk produksi semen beku di Indonesia. Kualitas semen beku yang baik dinyatakan dalam persentase motilitas dan daya hidup yang tinggi (Hardjopranjoto,1995).

Sel spermatozoa dengan motilitas tinggi dapat digunakan secara optimal sebagai sarana pembuahan (Salisbury dan Vandemark,1985). Motilitas diperlukan bagi sel spermatozoa untuk bergerak menuju saluran kelamin betina (Pane,1993).

Motilitas sel spermatozoa dapat dipengaruhi oleh penambahan substansi gliserol dalam bahan pengencer selama proses pembekuan. Gliserol berfungsi untuk melindungi sel spermatozoa dari *cold shock* selama proses pembekuan berlangsung (Toelihere,1981). Gliserol dan bahan pengencer harus diekuilibrasikan terlebih dahulu untuk mencapai keseimbangan dengan sel

spermatozoa sapi. Konsentrasi gliserol yang optimal dalam bahan pengencer adalah tujuh persen (Hardijanto,2000).

I.2. Rumusan Masalah

1. Apakah waktu ekuilibrasi gliserol berpengaruh terhadap motilitas sel spermatozoa sapi Brahman ?
2. Apakah waktu ekuilibrasi gliserol berpengaruh terhadap daya hidup sel spermatozoa sapi Brahman ?

I.3. Landasan Teori

Gliserol merupakan zar cair yang tidak berbau, tidak berwarna, manis rasanya dapat bercampur dengan air atau etanol secara merata (Tjokrodanoerdjo,1986). Gliserol memiliki nama lain, *glycerine; 1,2,3 propanetriol* (Anonim,2002). Gliserol adalah komponen kimia yang dibentuk dari molekul *tryglycerida* (gliserol dengan tiga asam lemak). Gliserol berasal dari hidrolisis asam lemak atau dari sisa pembuatan sabun (Anonim,1999).

Gliserol dapat pula berasal dari ester (*glyceride*) yang terdapat dalam minyak yang berasal dari tumbuhan atau hewan (Anonim,1999). Gliserol dapat dipakai sebagai pemanis, bahan pembuatan dinamit, kosmetik, sabun cair, permen, tinta dan bahan pelumas (Anonim,2002).

Penambahan gliserol dalam pengencer sangat esensial untuk proses pembekuan semen (Toelihere,1986). Gliserol merupakan substansi yang langsung berdifusi ke dalam sel spermatozoa dan dioksidasi oleh sel spermatozoa untuk menghasilkan energi dan membentuk fruktosa (Salisbury dan Vandemark,1985).

ADLN - Perpustakaan Universitas Airlangga

Penggunaan gliserol dalam bahan pengencer mulai digunakan sejak tahun 1952 (Legates and Warwick,1990).

Penambahan gliserol ke dalam pengencer berfungsi untuk menghindari tertimbunnya elektrolit intra seluler dalam sel spermatozoa (Hardijanto,2000) Gliserol dapat digunakan secara meluas dalam pengencer untuk pembekuan sel spermatozoa sapi dan domba pada keadaan aerob (Toelihere,1981). Gliserol dapat dipakai sebagai sumber energi bagi sel spermatozoa setelah semen diejakulasikan ke dalam saluran kelamin betina. Sel spermatozoa akan rusak apabila didinginkan jauh di bawah 0° C kecuali bila ditambahkan gliserol ke dalam bahan pengencer (Toelihere,1981).

Waktu ekuilibrasi adalah waktu yang diperlukan oleh sel spermatozoa sebelum pembekuan untuk menyesuaikan dengan bahan pengencer, agar sewaktu pembekuan kematian sel spermatozoa yang berlebih dapat dicegah (Toelihere,1986). Penelitian Nagase (1972) menjelaskan bahwa waktu ekuilibrasi untuk sel spermatozoa sapi sekitar tiga sampai empat jam.

Penelitian Van Demark yang dikutip oleh Hardijanto (2000) menjelaskan bahwa waktu ekuilibrasi yang terlalu lama mengakibatkan tuanya sel spermatozoa sehingga memiliki daya membuahi yang rendah setelah *thawing* (pencairan kembali).

Keberhasilan pembekuan semen pada suhu antara –79° C sampai –196° C ditentukan oleh beberapa faktor, yaitu 1) konsentrasi gliserol yang dipakai 2) cara penambahan gliserol pada semen 3) waktu ekuilibrasi gliserol dan 4) cara pengenceran semen untuk pembekuan (Hardijanto ,2000).

ADLN - Perpustakaan Universitas Airlangga

I.4. Tujuan Penulisan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh waktu ekuilibrasi gliserol terhadap motilitas dan daya hidup sel spermatozoa sapi Brahman.

I.5. Manfaat Penelitian

Manfaat hasil penelitian ini adalah sebagai bahan informasi ilmiah tentang waktu ekuilibrasi gliserol terhadap kualitas sel spermatozoa sapi Brahman yang dihasilkan dalam bentuk *straw*.

I.6. Hipotesis

1. Waktu ekuilibrasi gliserol berpengaruh terhadap motilitas sel spermatozoa sapi Brahman setelah dibekukan.
2. Waktu ekuilibrasi gliserol berpengaruh terhadap daya hidup sel spermatozoa sapi Brahman setelah dibekukan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sapi Brahman

2.1.1 Asal – usul Sapi Brahman

Di Indonesia terdapat lima bangsa sapi lokal yaitu Peranakan Ongole. Bali, Madura, Grati dan Kelantan (Mangkoewidjojo dan Smith,1988). Salah satu bangsa sapi yang terkenal adalah sapi Peranakan Ongole. Menurut Sasroamidjojo dan Soeradji (1990) sapi Peranakan Ongole merupakan persilangan antara sapi Ongole murni (zebu) dengan sapi lokal atau sapi zebu jenis lainnya. Sapi Ongole merupakan nenek moyang dari sapi Brahman. Sapi Brahman dan Sapi Ongole memiliki bentuk morfologi yang hampir sama.

Menurut Blakely dan Bade (1991), bangsa sapi Brahman pertama kali dikembangkan di Amerika Serikat dengan mengembangbiakkan secara murni sapi - sapi zebu dan mencampurkan darah beberapa bangsa sapi zebu seperti jenis Ongole, Kankrej, Gir, Guxerat, Nellore dan Krisna Valley. Sapi Brahman merupakan hasil pengembangan dari sapi Gir, Guzerat dan Ongole dengan sedikit percampuran dengan darah *Bos taurus* yang berasal dari Inggris (Pane,1993). Secara morfologis sapi Brahman sulit sekali dibedakan dengan sapi Ongole (Pane,1993).

Sapi Brahman pertama kali dimasukkan ke Amerika Serikat pada tahun 1849 dan dikembangkan secara *crossbreeding* di Negara Bagian Texas dan daerah barat daya Amerika Serikat (Williamson dan Payne,1993).

Sapi Brahman yang dikembangkan di Indonesia berasal dari dua galur yaitu galur dari Amerika Serikat dan galur dari Australia. Sapi Brahman yang diimpor ke Indonesia pada tahun 1974 berasal dari negara Australia. Sapi – sapi tersebut dibudidayakan di propinsi Lampung, Kalimantan Selatan dan sebagian besar propinsi di pulau Jawa (Anonim,1990).

2.1.2. Klasifikasi Sapi Brahman

Sapi Brahman termasuk phylum : *Chordata*, kelas : *Mammalia*, ordo : *Artiodactyla*, sub ordo : *Ruminansia*, family : *Bovidae*, sub famili: *Bovina*, genus : *Bos*, spesies : *Bos indicus*, ras atau bangsa : sapi Brahman (Jasin,1989).

Sapi Brahman tergolong ras atau bangsa tersendiri karena dibentuk akibat pengaruh iklim, tanah dan lingkungan hidup dari suatu daerah. Lingkungan hidup di Amerika Serikat yang khas termasuk keadaan geografis, sumber makanan, perawatan dan tujuan pemeliharaan ternak dapat menumbuhkan bangsa atau ras baru (Sastroamidjojo dan Soeradji,1990).

2.1.3. Morfologi Sapi Brahman

Sapi Brahman memiliki ciri fisik yang khas yaitu gumba yang besar dan kulit yang longgar dengan lipatan kulit pada bagian bawah leher sampai dengan perut yang lebar. Telinganya menggantung. Warna kulitnya umumnya abu – abu, tetapi ada juga yang merah (Sastroamidjojo dan Soeradji,1990).

Sapi Brahman merupakan bangsa sapi ukuran medium, pedetnya memiliki ukuran berat badan yang medium namun berat sapih umumnya ringan. Sapi Brahman memiliki ciri khas yang menarik, karena memiliki otot – otot sedikit di

ADLN - Perpustakaan Universitas Airlangga

bawah kulit sehingga memungkinkan sapi dapat menggerakkan kulitnya, suatu faktor yang menguntungkan bagi sapi untuk menolak serangga yang menyerang (Blakely dan Bade,1991).

Sapi Brahman memiliki telinga agak besar dan menjulai ke bawah. Tubuhnya terkesan gagah karena mempunyai kaki yang agak panjang dibandingkan dengan sapi Ongole atau Peranakan Ongole. Sapi Brahman memiliki muka yang agak panjang dan warna bulunya yang putih atau kelabu tetapi ada juga yang kemerah - merahan (Pane,1993).

Tabel 1. Ukuran beberapa bagian tubuh Pejantan lokal di Indonesia

Parameter Pejantan	Sapi Bali		Sapi Ongole/Brahman		Sapi Madura	
	Muda	Dewasa	Muda	Dewasa	Muda	Dewasa
Tinggi Gumba (cm)	112	126	128	165	110	116
Panjang Badan (cm)	127	134	127	133	115	127
Lingkar Dada (cm)	185	193	162	171	151	159
Umur (tahun)	2 – 3,5	4 – 8	2 – 3,5	4 –8	2 – 3,5	4 – 8

(Murtidjo,2000)

Warna kulit yang paling baik bagi pejantan dan induk sapi Brahman adalah warna putih atau abu – abu (Sastroamidjojo dan Soeradji,1990). Meskipun sulit dibedakan dengan sapi Ongole namun ada beberapa ciri khas dari sapi Brahman yang lebih menonjol yakni bentuk pantat lebih bulat, muka lebih panjang, telinga rebah dan kaki yang panjang serta kokoh (Anonim,2004).

2.1.4. Pertumbuhan dan Perkembangan Sapi Brahman

Sapi Brahman menghasilkan anak sapi dengan berat lahir yang rendah tetapi akibat produksi susu yang tinggi maka pertumbuhan anaknya cukup baik (Pane,1993).

Sifat dan karakter yang dimiliki oleh sapi Brahman sangat bagus, sehingga sering digunakan untuk penelitian dengan mengawinkannya dengan bangsa sapi *Bos taurus* (Pane,1993). Sapi Brahman memiliki arti penting bagi warga daerah pedesaan, karena dapat berfungsi sebagai ternak kerja yang membantu petani dalam sistim usaha tani. Selain sebagai ternak kerja sapi Brahman juga berfungsi sebagai penghasil pupuk kandang. Setiap ekor sapi Brahman dewasa menghasilkan 10 sampai 15 ton pupuk kandang setiap tahunnya (Anonim,1994).

Sapi Brahman juga dikenal sebagai sapi potong yang memiliki kualitas karkas yang bagus. Sapi Brahman sebagai ternak potong memiliki arti ekonomis bagi para peternak (Sastroamidjojo dan Soeradji,1990). Daging sapi Brahman memiliki nilai karkas sebesar 44 %. Pada usia empat tahun pejantan sapi Brahman mencapai berat badan antara 550 sampai 650 kilogram (Anonim,1990).

2.1.5. Produktivitas Sapi Brahman

Perbaikan mutu sapi Brahman pernah dilakukan di negara Amerika Serikat dan Australia dengan mengawinkan pejantan sapi Brahman dengan induk sapi *Santa Gertrudis, Brangus, Beefmaster, Charbay, Hereford, Droughmaster* dan *Ausralia Milking Zebu*. Hasil silangan sapi Brahman dengan sapi - sapi *Bos taurus* disebut sapi *Brahman cross* (*BX*).

Sapi *Brahman cross* pertumbuhannya cepat dan sangat baik sebagai ternak kerja. Sapi *Brahman cross* yang dihasilkan umumnya memiliki jumlah sifat keunggulan yang lebih baik dari kedua penurunnya (Pane,1993). Sapi Brahman memiliki keunggulan dibandingkan sapi Eropa yaitu tahan terhadap gigitan nyamuk dan tahan terhadap demam Texas. Sapi Brahman merupakan penghasil daging yang baik di daerah tropis (Anonim,1990).

Pemanfaatan sapi Brahman di Amerika Serikat dan Australia (*Brahman cross*) ditujukan untuk meningkatkan mutu sapi Brahman bukan sebagai sapi potong tetapi sebagai sapi riset (Pane,1993).

Kualitas daging yang dihasilkan sapi Brahman cukup baik (Anonim,1990). Karakteristik karkas daging sapi Brahman secara lengkap tersaji tabel 2.

Tabel 2. Karakteristik daging sapi Brahman.

Karakteristik Daging	Persentase
Kadar air daging	73,00 – 73,10
Kadar protein	22,70 – 23,60
Kadar lemak	2,40 – 3,30
Kadar abu	1,10 – 1,20

(Suparto dan Sumardi,1991)

Ditinjau dari pemuliaan ternak, sapi Brahman sangat menunjang usaha pelestarian sapi jenis zebu, karena menimbulkan minat para peternak untuk terus menerus memelihara sapinya agar tetap berkualitas tinggi (Anonim, 2002).

Kenaikan berat badan rata – rata sapi Brahman kereman lebih tinggi dari sapi Peranakan Ongole (Anonim,1999). Pertambahan berat badan harian sapi Brahman mencapai 0,81 sampai 0,93 kg per hari sedangkan pada sapi Peranakan Ongole 0,78 sampai 0,85 kg per hari. Konsumsi pakan untuk sapi Brahman

UNIVERSITAS AIRLANGGA SURABAYA

rata – rata 8,52 kg per hari sedangkan pertambahan berat badan maksimal per hari sebesar 1,36 kg (Suparto dan Sumadi,1991).

Metode perkawinan dengan Inseminasi Buatan pada sapi Brahman baru dikenal petani pada tahun 1983, namun perkembangannya sangat lambat. Sapi Brahman beranak pertama kali pada umur 27 bulan dan jarak beranak sekitar 14 bulan (Anonim,2002).

Usaha meningkatkan produktivitas sapi Brahman sebagai ternak potong melalui penerapan teknologi IB di pulau Jawa sangat tepat karena cara ini lebih menguntungkan bagi peternak (Anonim,2002).

2.2. Sel Spermatozoa Sapi

2.2.1. Komposisi Sel Spermatozoa

Semen yang telah diejakulasikan dari saluran kelamin jantan merupakan kombinasi dari produk testis dan sekresi kelenjar asesoris (Salisbury dan Van demark,1985). Volume semen sapi yang normal menghasilkan rata – rata enam sampai tujuh ml per ejakulasi. Semen sapi terdiri atas dua bagian yaitu sel spermatozoa dan plasma semen (Partodihardjo,1987).

Sel spermatozoa terdiri dari tiga bagian utama, yaitu kepala, badan dan ekor. Ekor spermatozoa terdiri dari tiga sub bagian yaitu *middle piece, principal piece* dan *end piece. Principle piece* merupakan bagian terpanjang dari ekor sedangkan *end piece* lebih kecil dari *principle piece* (Partodihardjo,1987).

Plasma semen mengandung senyawa – senyawa organik antara lain fruktosa, asam sitrat, sorbitol, inositol, ergotionin, prostaglandin, asam amino dan asam oksalat (Salisbury dan Vandemark,1985).

Unsur anorganik yang terdapat dalam spermatozoa adalah kalsium, natrium, klorida dan beberapa logam berat (Hardijanto,2000). Unsur – unsur tersebut berperan penting dalam proses metabolisme sel spermatozoa (Toelihere,1981).

2.2.2. Konsentrasi Sel Spermatozoa

Konsentrasi sel spermatozoa adalah jumlah sel spermatozoa per mililiter semen. Konsentrasi sel spermatozoa dan persentase sel spermatozoa motil memberikan gambaran jumlah sperma motil per ejakulat. Jumlah sel spermatozoa motil sangat menentukan berapa jumlah betina yang dapat diinseminasi dengan ejakulat tersebut (Toelihere,1986).

Tabel 3. Volume dan Konsentrasi Semen Beberapa Jenis Ternak

Jenis Hewan	Volume Ejakulasi (ml)		Konsentrasi (Juta/ml)
	Kisaran	Rata – rata	
Kerbau	2,0 – 13	2,0	900
Sapi	2,0 – 10	5,0	1000
Kambing	0,1 – 3,5	0,7	2700
Domba	0,2 – 3,0	1,0	2500
Babi	50 – 400	250	125
Ayam	0,1 - 1,0	0,2	4000

(Williamson dan Payne ,1993)

2.2.3. Motilitas Sel Spermatozoa

Tubuh sel spermatozoa terdiri atas kepala, bagian tengah dan ekor (Frandson,1992). Pada bagian tengah sel spermatozoa terdapat mitokondria sebagai pusat tenaga. Pada bagian tengah terdapat sistim enzim yang menggerakkan siklus asam trikarboksilat (siklus *Krebs*), transfer elektron serta

fosforilasi oksidatif yang menghasilkan energi dalam bentuk *Adenosine Tri Phosphate (ATP)* untuk gerakan sel spermatozoa (Rasbech,1993).

ATP merupakan sumber energi utama untuk menggerakkan flagela sel spermatozoa dan telah dibuktikan dengan adanya korelasi antara persentase sel spermatozoa yang mempunyai motilitas sangat baik dengan konsentrasi *ATP* (Zaneveld,1976). Kadar fruktosa dan angka respirasi juga mempunyai korelasi positif dengan motilitas sel spermatozoa (Toelihere,1981).

Gerakan ekor sel spermatozoa disebabkan oleh aktivitas kontraktil dari mikrotubulus, gerak ini sejenis dengan aktivitas aktin dan miosin pada serabut otot (Mitchell *et al.*, 1976). Gerakan ekor sel spermatozoa menyebabkan sperma dapat bergerak ke depan, aktif dan lincah dengan irama getar ekor yang teratur (Soehadi dan Arsyad,1982).

Motilitas sel spermatozoa dapat terjadi karena ekor yang tidak begitu erat hubungannya dengan kepala sehingga bisa bergerak dengan bebas. Fibril luar dari ekor yang memiliki unsur kontraktil dan fibril dalam yang lebih halus sebagai pengatur impuls yang berasal dari leher sehingga menyebabkan gerakan pada ekor sel spermatozoa (Hardjopranjoto,1995). Motilitas sangat berguna untuk memindahkan sel spermatozoa ke dalam saluran reproduksi betina (Salisbury dan Vandemark,1985).

Motilitas sangat penting untuk fertilisasi karena menunjukkan gambaran sel spermatozoa yang sehat. Motilitas dapat membantu transportasi sel spermatozoa dari saluran kelamin betina menuju tempat fertilisasi (Toelihere,1986).

2.3. Proses Metabolisme Sel Spermatozoa

2.3.1. Sumber Energi untuk Metabolisme

Sel spermatozoa memerlukan aktivitas metabolisme untuk proses hidupnya. Zat – zat yang diperlukan untuk proses metabolisme berasal dari plasma semen. Zat - zat lain yang tidak terdapat dalam plasma semen dapat pula ditambahkan sebagai bahan dasar metabolisme. Fruktosa, kuning telur dan gliserol merupakan sumber energi utama dalam proses pembuatan semen beku yang bisa ditambahkan (Toelihere,1986).

Gliserol dapat berfungsi melindungi spermatozoa terhadap efek *lethal* pembekuan. Zat – zat tersebut dapat dimetabolisir menghasilkan *ATP* sebagai sumber utama untuk biosintesis (Zaneveld,1976).

2.3.2. Metabolisme Sel Spermatozoa

Menurut Partodihardjo (1987) pada ekor sel spermatozoa terdapat bagian yang disebut *middle piece*. *Middle piece* merupakan bagian ekor yang tebal yang di dalamnya terdapat mitokondria yang membentuk serat berulir. Aktivitas metabolisme sebagian besar terjadi di *middle piece* (Partodihardjo,1987).

ATP dan *ATPase* membentuk mata rantai antara reaksi – reaksi yang menghasilkan energi dan motilitas (Toelihere,1981). Perombakan *ATP* membutuhkan energi untuk kontraksi fibril – fibril sel spermatozoa sebagaimana terhadap fibril otot. *ATP* yang hilang dapat diperoleh sel spermatozoa melalui reaksi – reaksi penghasil energi dari fruktolisa dan respirasi (Salisbury dan Vandemark, 1985).

Faktor - faktor yang mempengaruhi metabolisme sel spermatozoa adalah 1) temperatur 2) konsentrasi sel spermatozoa 3) kadar fosfat organik dan anorganik 4) pH 5) kation dan anion 6) tekanan osmose 7) hormon 8) zat anti bakteri dan 9) gas. Beberapa hal di atas sedikit atau banyak akan berpengaruh terhadap angka metabolisme (Salisbury dan Vandemark,1985).

2.4. Proses Pembekuan Semen

2.4.1. Bahan Pengencer dan Pengenceran

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 (Hardjopranjoto,1995).

Bahan pengencer untuk sel spermatozoa harus mengandung zat – zat makanan, ion – ion, pH yang sesuai, tekanan osmotik yang optimal untuk proses pertukaran zat yang seimbang dalam sel spermatozoa (Salisbury dan Vandemark,1985).

Bahan pengencer yang digunakan harus terbebas dari bakteri. Sel spermatozoa dapat diencerkan dengan pengencer yang bersifat sebagai pelindung dan dapat disimpan dalam suhu 4° – 5° C untuk memperoleh daya hidup yang optimal (Salisbury dan Vandemark,1985).

Syarat penting yang harus dimiliki oleh bahan pengencer adalah pengencer harus menyediakan zat makanan sebagai sumber energi bagi sel spermatozoa, melindungi sel spermatozoa terhadap efek *cold shock* (kejutan dingin), mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit yang sesuai, mencegah pertumbuhan kuman, dapat memperbanyak volume semen sehingga lebih banyak ternak betina dapat diinseminasi dengan satu kali ejakulasi (Toelihere,1981).

Bahan pengencer yang sering digunakan adalah Na sitrat (Salisbury dan Vandemark,1985). Na sitrat memiliki nama latin *sodium citrate dihidrate* (Perry,1973). Na sitrat ($Na_3C_6H_5O_7.2H_2O$) berfungsi sebagai penyanggah, mengikat logam berat terutama kalsium, menyebarkan lemak dari kuning telur menjadi butiran – butiran lemak yang lebih halus dan bersama kuning telur membentuk pengencer yang isotonis terhadap sel spermatozoa (Salisbury dan Vandemark,1985). Pengencer *Tris Amino Methane* merupakan modifikasi dari Na sitrat (Toelihere, 1981).

Kuning telur dalam pengencer berfungsi untuk mempertahankan integritas selubung sel spermatozoa, mencegah *cold shock* karena mengandung lechitin, sebagai sumber energi karena mengandung glukosa dan mengandung vitamin – vitamin yang memiliki viskositas yang baik bagi sel spermatozoa (Salisbury dan Vandemark,1985).

Tris Amino Methan berfungsi sebagai penyanggah untuk mencegah terjadinya perubahan pH akibat asam laktat dari hasil metabolisme sel

spermatozoa, mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit yang sesuai (Anonim,1990).

2.4.2. Gliserol

Gliserol merupakan zat cair yang tidak berbau, manis rasanya, dapat bercampur dengan air atau etanol secara merata. Gliserol merupakan hasil samping dari reaksi penyabunan gliserida (Tjokrodanoerdjo, 1986).

$$\underset{\text{(Gliserida)}}{\text{Lemak + Basa}} \longrightarrow \underset{\text{(Garam)}}{\text{Sabun}} + \text{Gliserol}$$

Rumus molekul gliserol adalah $C_3H_8O_3$. Gliserol dapat dioksidasi menghasilkan asam gliserol dan H_2O (Tjokrodanoerdjo, 1986).

$$C_3H_8O + 2On \longrightarrow \underset{\text{(Asam gliserol)}}{C_3H_6O_4} + H_2O$$

Gliserol dalam proses metabolisme berfungsi sebagai pelindung sel spermatozoa pada saat pembekuan (Salisbury dan Vandemark,1985). Gliserol dapat langsung memasuki sel spermatozoa seperti fruktosa dan langsung digunakan dalam proses metabolisme (Toelihere,1981).

Konsentrasi gliserol yang umum dipakai dalam bahan pengencer adalah tiga sampai sepuluh persen (Rasbech,1993). Kadar optimal gliserol untuk pengencer sitrat kuning telur berkisar antara 7,0 sampai 7,6 persen . Gliserol dicampur dahulu dengan setengah volume larutan pengencer sampai mencapai konsentrasi dua kali konsentrasi akhir. (Toelihere,1986).

2.4.3. Waktu Ekuilibrasi Gliserol

Waktu ekuilibrasi gliserol adalah waktu yang dibutuhkan sel spermatozoa untuk mengadakan keseimbangan dengan bahan pengencer yang mengandung

ADLN - Perpustakaan Universitas Airlangga

gliserol pada rentangan waktu tertentu pada suhu di atas titik beku sebelum dilakukan pembekuan (Toelihere,1986).

Pada sel spermatozoa yang tidak dibekukan, penambahan gliserol pada beberapa bahan pengencer seperti susu skim dan susu murni menyebabkan kenaikan daya hidup sel spermatozoa tetapi tidak pada pengencer sitrat kuning telur (Salisbury dan Vandemark,1985). Apabila temperatur diturunkan dengan cepat, sedangkan keadaan di dalam sel tidak sesuai maka akan terjadi kerusakan sel yang tidak dapat diperbaiki yang dikenal dengan *cold shock*. *Cold shock* dapat mengakibatkan 1) permeabilitas membran sel berkurang 2) kebocoran sitokrom, dan 3) terhambatnya sintesis *ATP* (Hafez, 1970).

Efek *cold shock* dapat dikurangi dengan memberikan substansi pelindung sebagai pelindung sel spermatozoa selama proses pendinginan, yaitu gliserol lipoprotein, lecitin dan substansi yang mengandung komposisi tersebut seperti kuning telur. *Cold shock* yang disebabkan oleh suhu rendah terhadap sel spermatozoa dapat menyebabkan perubahan – perubahan yang mengakibatkan abnormalitas sel spermatozoa (Salisbury dan Vandemark,1985).

Cold shock dapat dihindarkan apabila pendinginan dilakukan secara perlahan – lahan pada suhu antara 5° sampai 0° C. Kesempatan hidup mikroorganisme dapat dikurangi dalam semen beku yang mengandung gliserol dan mengalami ekuilibrasi sebelum pembekuan (Toelihere,1981).

Ekuilibrasi gliserol dilakukan pada suhu 5° C. Lama waktu ekuilibrasi berkisar antara dua sampai enam jam, biasanya tiga jam, ini dihubungkan dengan daya efektivitas antibiotika setelah tiga jam terlampaui (Toelihere,1986). Dengan

sitrat kuning telur waktu ekuilibrasi yang lebih lama menghasilkan daya hidup yang lebih baik (Salisbury dan Vandemark,1985). Ekuilibrasi biasanya dilakukan diatas lima jam pada suhu antara 4° sampai 5° C (Hafez, 1970).

2.4.4. Penyimpanan sel Spermatozoa dibawah Titik Beku

Semen beku dapat disimpan untuk periode yang lama pada temperatur –79°C dalam es kering atau –196° C dalam nitrogen cair (Legates dan Warwick,1990). Daya simpan semen beku bisa mencapai lebih dari 30 tahun yang melebihi umur biologis ternak (Anonim, 2002).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di kandang pemeliharaan sapi Brahman dan laboratorium Produksi Semen Beku, Balai Inseminasi Buatan Singosari Malang. Penelitian dilakukan sejak tanggal 15 Oktober 2004 sampai dengan tanggal 30 November 2004.

3.2. Materi Penelitian

3.2.1. Hewan Penelitian

Hewan penelitian terdiri atas seekor pejantan sapi Brahman dengan kode nama *TOMINI* yang memiliki berat badan 680 kilogram. Pejantan tersebut dipelihara dengan kondisi pemeliharaan yang baik. Pemberian makan diberikan sesuai jadwal sedangkan air minum diberikan secara *ad libitum*.

3.2.2. Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan adalah semen beku dari *TOMINI*, *aquades*, larutan *eosin nigrosin*, alkohol 70 %, $Na_3C_6H_5.2H_2O$, *Tris Amino Methan* (*TAM*), *laktosa*, *fruktosa*, *raffinosa*, kuning telur, Na Cl fisiologis, *penicillin*, *streptomycin*, nitrogen cair dan gliserol dengan kadar 14 %.

3.2.3. Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : kandang jepit, vagina buatan, pompa, *stick glass*, botol pemanas, handuk, corong, mikroskop cahaya , tabung reaksi, *cover glass*, gelas obyek, kertas lakmus, ose, tabung ukur, *collection tube,* mikrofilter, spektrofotometer, termometer, *container, filling and sealing machine, printing machine, inkubator, tisue,* lemari es, kertas label, tempat untuk *thawing* (*waterbath*), *counter*, gunting, pinset dan *erlenmeyer*.

3.3. Metode Penelitian

3.3.1. Persiapan Hewan Penelitian

Persiapan hewan penelitian dilakukan dengan memantau kesehatan setiap hari. Setiap minggu dilakukan dua kali gerak badan untuk menjaga kondisi tubuh sapi. Sebelum dilakukan pengambilan semen, kandang dan tempat makanan dibersihkan dari kotoran dan sisa makanan. Untuk kebutuhan pakan diberikan sesuai dengan kebutuhan.

Pemberian pakan dilakukan setiap hari dan untuk pagi hari diberikan sekitar pukul 07.00 WIB yang diawali dengan pemberian konsentrat sebanyak tiga kilogram per ekor dan mineral dilanjutkan dengan pemberian rumput segar hasil hay dan silase sedangkan pada sore hari diberikan sekitar pukul 15.30 WIB hanya berupa hijauan saja. Pemberian air minum dilakukan secara *ad libitum*.

Penampungan semen dilakukan dikandang jepit dengan memakai vagina buatan yang bersuhu 40° – 42° C. Semen hasil penampungan segera dievaluasi secara mikroskopis dan makroskopis meliputi volume, warna, kekentalan, pH,

gerakan massa, konsentrasi, morfologi, persentase motilitas dan persentase hidup sel spermatozoa (Herdis,1999).

Menurut Herdis (1999) semen segar yang memenuhi persyaratan untuk pembekuan memiliki batas minimal :

- Persentase motilitas ≥ 65 persen
- Persentase hidup ≥ 75 persen
- Konsentrasi 700 juta/ml
- Persentase abnormal ≤ 20 persen.

3.3.2. Perlakuan Bahan Penelitian

Dalam penelitian ini bahan percobaan diacak berdasarkan perlakuan yang diberikan, terdapat empat perlakuan yang masing – masing diulang enam kali, sehingga ada 24 *straw* yang digunakan dalam penelitian ini.

Perlakuan – perlakuan tersebut adalah sebagai berikut :

- P0 : Semen dalam pengencer tidak diekuilibrasi (nol jam)
- P1 : Semen dalam pengencer diekuilibrasi selama 2 jam
- P2 : Semen dalam pengencer diekuilibrasi selama 4 jam
- P3 : Semen dalam pengencer diekuilibrasi selama 6 jam

3.3.3. Pemeriksaan Makroskopis

Menurut Djanah (1985) pemeriksaan makroskopis meliputi volume sel spermatozoa, konsistensi sel spermatozoa, pH, warna dan bau sel spermatozoa.

3.3.4. Pemeriksaan Mikroskopis

Pemeriksaan mikroskopis meliputi konsentrasi sel spermatozoa, persentase hidup sel spermatozoa, gerakan massa dan individu sel spermatozoa (Djanah,1985).

Untuk menentukan persentase sel spermatozoa yang hidup dilakukan prosedur sebagai berikut :

- Obyak gelas dibersihkan dengan alkohol 70 %
- Meneteskan pada obyak gelas setetes zat warna *eosin nigrosin* dan disampingnya setetes sel spermatozoa segar. untuk semen beku harus dilakukan *thawing* terlebih dahulu.
- Mencampurkan sel spermatozoa dengan ose sampai homogen
- Membuat preparat ulas yang tipis
- Mengeringkan di atas api
- Pemeriksaan di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali
- Sel spermatozoa yang mati akan berwarna merah karena tidak mampu mempertahankan sifat membran sel yang semi permiabel sehingga zat warna tertentu dapat masuk (Soehadi dan Arsyad.1982). Sel spermatozoa yang hidup tidak menyerap zat warna sehingga tampak tidak berwarna dalam lapangan pandang.

3.3.5. Pembuatan Semen Beku tipe *Straw*

Jerami plastik atau *straw* yang dipergunakan berukuran panjang 12 cm yang berisi 0.25 ml (Toelihere. 1981). Salah satu ujungnya ditutup dengan kapas tak menyerap (*non absorbent cotton*). *Straw* yang telah diberi identifikasi

seperlunya kemudian dijepit pada patron yang dapat memuat 15 *straw*. Semen yang telah diencerkan kemudian dihisap ke dalam *straw* dengan menggunakan pompa pengisap yang dijalankan dengan tenaga listrik (*filling and sealing machine*) (Kumada dkk .,-2002).

Ujung *straw* yang terbuka ditekankan ke atas serbuk perekat *polyvinylalkohol*. *Straw* kemudian dimasukan ke dalam air dalam penangas yang bersuhu 21°C setelah selesai lalu disimpan ke dalam lemari pendingin bersuhu 5°C untuk diekuilibrasikan. Selama waktu ini *straw* dikeringkan dan ditempatkan di atas *grill* (Toelihere.1981).

Untuk pembekuan semen, *grill* dengan *straw* yang terletak horizontal ditempatkan dalam uap nitrogen, kira – kira 40 cm di atas permukaan nitrogen cair. Pembekuan ini hanya berlangsung selama sepuluh menit, kemudian dimasukan ke dalam *goblet* atau tabung - tabung plastik dan langsung dicelupkan ke dalam nitrogen cair (Toelihere.1981).

Volume semen dalam *straw* adalah 0.25 ml. Penyimpanan *straw* dengan metode ini dapat menghemat tempat, juga ringan dan praktis untuk dibawa. *Straw* dapat dibuat dalam berbagai warna. *Straw* sapi Brahman berwarna biru muda. Huruf yang tercetak di atasnya tidak mudah terhapus (Toelihere.1981).

3.3.6. Pencairan Kembali Semen Beku

Untuk mengetahui motilitas dan daya hidup sel spermatozoa maka semen beku harus dicairkan terlebih dahulu *(thawing)*. Waktu *thawing* lebih kurang tujuh detik. *Thawing* dilakukan dalam *waterbath* kemudian dilakukan pemeriksaan mikroskopis.

3.3.7. Variabel Penelitian

- Dalam penelitian ini terdapat dua variabel, yaitu bebas dan tidak bebas. Variabel bebas adalah lamanya waktu ekuilibrasi gliserol dan variabel tidak bebas adalah motilitas dan persentase hidup sel spermatozoa.

Definisi operasional :

- Motilitas yaitu gerakan aktif sel spermatozoa baik individu atau massa.
- Persentase hidup, yaitu banyaknya sel spermatozoa yang hidup dibandingkan jumlah keseluruhan sel spermatozoa, dinyatakan dalam persentase.

3.4. Peubah yang Diamati

Peubah yang diamati dalam penelitian ini adalah motilitas dan persentase hidup sel spermatozoa.

3.5. Pemeriksaan Sel Spermatozoa

3.5.1. Pemeriksaan Motilitas Sel Spermatozoa

Satu tetes sel spermatozoa diteteskan di atas gelas obyek. Selanjutnya gerakan massa diperiksa di bawah mikroskop dengan pembesaran 100 kali. Sel spermatozoa yang motil akan terlihat pada gerakan gumpalan sel yang bergerak membentuk gelombang yang tebal dan gelap dalam jumlah yang banyak. Sedangkan pada gerak individu sel spermatozoa bergerak progresif yang merupakan gerak aktif ke dapan. Pemeriksaan gerakan individu dilakukan dengan pembesaran 400 kali.

3.5.2. Pemeriksaan Persentase Hidup Sel Spermatozoa

Satu tetes sel spermatozoa diteteskan pada gelas obyek, lalu dicampur dengan satu tetes larutan *eosin nigrosin*. Diaduk rata, dibuat sediaan hapusan dan

kemudian dikeringkan di udara. Pemeriksaan dilakukan di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali. Sel spermatozoa yang hidup akan terlihat tidak berwarna di atas dasar yang berwarna merah. Sedangkan sel spermatozoa yang mati akan terlihat berwarna merah. Hasilnya dibuat persentase sel spermatozoa yang hidup.

3.6. Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang dipakai adalah Penelitian Experimental Sungguhan (*True Experiment Research*). Penelitian ini bertujuan untuk menyelidiki kemungkinan hubungan sebab akibat dengan cara mengenakan satu atau beberapa kondisi perlakuan pada beberapa kelompok perlakuan dan membandingkan dengan kelompok kontrol yang tidak dikenai kondisi perlakuan (Suryabrata,1998).

Perancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan dan 24 ulangan (Kusriningrum,1989).

3.7. Analisis Data

Analisis data dengan menggunakan *Analysis of Variance* (*ANAVA*) yang dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT 5%) untuk membandingkan perlakuan tersebut (Gaspersz,1994).

BAB IV

HASIL PENELITIAN

Hasil penelitian mengenai pengaruh waktu ekuilibrasi gliserol selama nol jam (P0), dua jam (P1), empat jam (P2) dan enam jam (P3) terhadap motilitas dan persentase hidup sel spermatozoa sapi Brahman adalah sebagai berikut:

4.1. Motilitas sel spermatozoa

Hasil penelitian menunjukkan bahwa waktu ekuilibrasi gliserol dapat mempengaruhi motilitas sel spermatozoa. Hal ini ditunjukkan persentase motilitas sel spermatozoa pada P2 (46,67 ± 3,7417) lebih besar dibandingkan dengan P0 (37,5 ± 4,1833) dan P1 (38,33 ± 2,2519).

Hasil selengkapnya pengaruh waktu ekuilibrasi gliserol terhadap motilitas sel spermatozoa secara rinci disajikan dalam tabel 4.

Tabel 4. Motilitas sel spermatozoa sapi Brahman setelah dibekukan (%) terhadap waktu ekuilibrasi gliserol.

Perlakuan	Motilitas ($\bar{x} \pm SD$)
P0	37,5 ± 4,1833 [c]
P1	40,8333 ± 2,0412 [c]
P2	46,67 ± 3,7417 [a]
P3	45 ± 3,1623 [ab]

Keterangan : Superskrip a, b dan c yang berbeda pada kolom yang sama di atas menunjukkan perbedaan yang nyata ($p<0,05$).

4.2. Persentase hidup sel spermatozoa

Hasil penelitian menunjukkan bahwa waktu ekuilibrasi gliserol menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap persentase hidup sel spermatozoa. Kelompok kontrol (P0) berbeda secara nyata dengan kelompok perlakuan (P1, P2 dan P3). Hasil selengkapnya secara rinci disajikan dalam tabel 5.

Tabel 5. Persentase hidup sel spermatozoa sapi Brahman setelah dibekukan (%) terhadap waktu ekuilibrasi gliserol.

Perlakuan	Persentase hidup ($\bar{x} + SD$)
P0	52.5 ± 5.2441^{c}
P1	56.6667 ± 6.0553^{ab}
P2	$60.83 \pm 2,0412^{a}$
P3	$59.1667 \pm 2,0412^{ab}$

Keterangan : Superskrip a, b dan c yang berbeda pada kolom yang sama di atas menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05).

BAB V

PEMBAHASAN

Perlakuan waktu ekuilibrasi gliserol selama empat jam menunjukkan perbedaan motilitas sel spermatozoa yang nyata ($p<0,05$). Ini berarti waktu ekuilibrasi gliserol selama empat jam berpengaruh terhadap motilitas sel spermatozoa sapi Brahman dalam pengencer tris kuning telur yang diteliti.

Waktu ekuilibrasi gliserol selama empat jam merupakan waktu yang optimal untuk pembekuan sel spermatozoa. Ekuilibrasi gliserol empat jam menghasilkan persentase motilitas (46,67 ± 3,7417) yang berbeda nyata dengan ekuilibrasi gliserol nol jam (37,5 ± 4,1833) dan dua jam (40,8333± 2,0412).

Dari hasil penelitian motilitas sel spermatozoa menunjukkan bahwa antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan memperlihatkan perbedaan motilitas sel spermatozoa yang nyata berupa gerakan massa yang cepat dalam jumlah yang banyak dan gerakan individu yang tergolong progresif yang merupakan gerakan aktif ke depan (Soehadi dan Arsyad, 1982).

Motilitas sel spermatozoa diperlukan agar sel spermatozoa dapat mencapai ovum untuk pembuahan. Sel spermatozoa harus dalam keadaan motilitas yang baik untuk melakukan penetrasi sepanjang *cervical mucus* dan bermigrasi menuju saluran reproduksi betina untuk mencapai tempat fertilisasi (Soehadi dan Arsyad, 1982).

Pada kelompok kontrol (P0) dengan waktu ekuilibrasi gliserol selama nol jam didapatkan persentase motilitas sel spermatozoa sebesar 37,5 ± 4,1833. Hal ini disebabkan karena belum tercapainya keseimbangan antara gliserol dengan sel spermatozoa. Gliserol yang belum mencapai periode keseimbangan menimbulkan dampak yang buruk pada saat dilakukan pembekuan.

Ekuilibrasi gliserol dan proses pendinginan yang dilakukan secara cepat dan tiba – tiba menimbulkan *cold shock*. *Cold shock* terjadi karena cepatnya proses pemecahan *ATP* sebagai akibat kebutuhan energi yang mendadak sehingga sel spermatozoa kehabisan energi. Akibat dari *cold shock* dinding selnya bersifat sangat permeabel terhadap elektrolit dan terjadi kerusakan protein intra selular (Hardijanto, 1994).

Motilitas sel spermatozoa berhubungan erat dengan proses metabolisme sel spermatozoa. Metabolisme memungkinkan sel spermatozoa untuk menghasilkan energi yang diperlukan untuk proses fertilisasi dalam saluran kelamin betina. Substansi dari luar untuk proses metabolisme sel spermatozoa sangat diperlukan. Substansi untuk metabolisme sel spermatozoa dapat berasal dari : 1) sel spermatozoa sendiri 2) gliserol dan 3) kuning telur (Salisbury dan Vandemark,1985).

Gliserol adalah molekul lemak yang sangat sederhana (Salisbury dan Vandemark, 1985). Gliserol juga termasuk golongan alkanol polivalen atau polihidroksi yang berfungsi memberikan perlindungan terhadap efek *cold shock*, tetapi bila kadarnya berlebihan dapat menyebabkan kerusakan

pada struktur membran sel spermatozoa selama proses pendinginan (Herdis, 1999).

Fungsi dari gliserol adalah 1) menghindari terbentuknya kristal - kristal es 2) menghindari penimbunan elektrolit intraseluler dan 3) menghindari hancurnya hubungan – hubungan interseluler yang vital. Semen akan membeku pada suhu – $0,53^0$ C, sedangkan kristal – kristal es akan terbentuk secara sempurna pada suhu $-1,7^0$ C. Suhu kritis semen antara $-1,5^0$ C sampai – 30^0 C. Penambahan gliserol dapat menurunkan titik beku cairan hingga -3^0 C (Hardijanto, 1994).

Dinding sel spermatozoa sangat permiabel terhadap gliserol. Gliserol berdifusi memasuki sel spermatozoa semudah fruktosa untuk aktivitas metabolisme oksidatif. Gliserol yang memasuki sel akan menggantikan sebagian air yang bebas dan mendesak keluar elektrolit, menurunkan konsentrasi elektrolit interseluler tersebut dan mengurangi daya perusaknya terhadap sel spermatozoa (Toelihere, 1986).

Gliserol dalam proses pembekuan semen dapat memodifikasi kristal es dan meleburkannya dalam medium sehingga kerusakan sel spermatozoa dapat dihindari. Sel spermatozoa sapi yang diencerkan dengan sitrat kuning telur yang mengandung sepuluh sampai lima belas persen gliserol, setelah *thawing* menunjukkan 50 – 70 % sel spermatozoa hidup (Toelihere, 1986).

Waktu ekuilibrasi gliserol selama empat jam menghasilkan persentase motilitas yang paling tinggi. Hal ini disebabkan karena waktu ekuilibrasi gliserol selama empat jam dicapai keseimbangan yang optimal antara sel spermatozoa sapi Brahman dengan gliserol dalam bahan pengencernya (Herdis, 1999).

ADLN - Perpustakaan Universitas Airlangga

Keseimbangan antara gliserol dengan sel spermatozoa akan mempermudah proses metabolisme sel spermatozoa. Proses metabolisme bertujuan untuk menghasilkan motilitas bagi sel spermatozoa. Sebelum dilakukan pembekuan, gliserol berfungsi sebagai sumber energi (Toelihere, 1986).

Bahan pengencer tris kuning telur yang mengandung gliserol memiliki fungsi 1) Menyediakan zat makanan sebagai sumber energi bagi sel spermatozoa 2) melindungi sel spermatozoa terhadap *cold shock* 3) sebagai larutan penyanggah 4) mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit dalam larutan serta 5) memperbanyak volume semen (Toelihere,1986).

Kuning telur mengandung glukosa, lipid dan fosfolipid. Glukosa digunakan sebagai sumber utama metabolisme. Lipid dan fosfolipid yang terdapat dalam kuning telur dapat digunakan sebagai bahan cadangan metabolisme dan mempertahankan integritas selubung sel spermatozoa dari *cold shock* (Hafez,1970).

Metabolisme sel spermatozoa berlangsung di dalam mitokondria (Frandson, 1992). Metabolisme bertujuan untuk menghasilkan *ATP* yang dipergunakan untuk motilitas sel spermatozoa. Bila persediaan fosfat organik dalam *ATP* dan *ADP* habis, maka kontraksi fibril sel spermatozoa akan berhenti sehingga motilitas juga berhenti. Supaya motilitas dapat berlangsung maka *ADP* dan *ATP* harus dibangun kembali. Untuk membangun kembali *ATP* dan *ADP* diperlukan sumber energi dari luar. Sumber energi tersebut berasal dari karbohidrat dan lemak yang terdapat dalam kuning telur dan gliserol (Salisbury dan Vandemark,1985).

ADLN - Perpustakaan Universitas Airlangga

Gliserol bekerja dalam keadaan aerob. Gliserol memasuki siklus perombakan fruktosa pada *triosa phosphate*, suatu fase yang membutuhkan O_2 dan dapat diubah menjadi asam laktat untuk oksidasi lebih lanjut (Toelihere, 1981). Asam amino, gliserol dan asam propionat merupakan sumber utama untuk proses glukoneogenesis sel spermatozoa. Glukoneogenesis adalah proses pembentukan glukosa dengan bahan dasar non karbohidrat yakni asam piruvat. Asam piruvat juga dihasilkan dari hasil proses glikolisis (Jasin, 1989). Gliserol dapat dioksidasi dalam proses metabolisme sel spermatozoa dan membentuk fruktosa dan sedikit asam laktat yang terbentuk sehingga aktivitas sel spermatozoa menjadi optimal (Toelihere, 1986). Gliserol dapat pula diubah oleh sel spermatozoa menjadi glukosa dan kemudian menjadi asam piruvat untuk dioksidasi lebih lanjut dalam siklus *Krebs* (Wahju, 1992).

Gliserol berperan memacu pertukaran zat dan efektif pada proses glikolisis *aerob* (Salisbury dan Vandemark,1985). Gliserol memasuki siklus perombakan fruktosa pada *triosa phosphate* dan membutuhkan oksigen dengan hasil akhir berupa asam laktat (Toelihere, 1981). Satu mol glukosa dapat dioksidasi menghasilkan dua mol asam piruvat (Wahju, 1992).

Pada ekuilibrasi gliserol selama dua jam, keseimbangan antara sel spermatozoa sapi Brahman dengan pengencernya belum tercapai. Gliserol belum secara sempurna memasuki dinding sel spermatozoa sehingga konsentrasi gliserol di luar sel lebih banyak. Gliserol yang belum tercampur secara sempurna menyebabkan kerusakan membran plasma sel spermatozoa pada proses

ADLN - Perpustakaan Universitas Airlangga

pembekuan lebih banyak dibandingkan dengan waktu ekuilibrasi gliserol selama empat jam (Herdis, 1999).

Waktu ekuilibrasi gliserol yang terlalu lama menyebabkan asam laktat yang terbentuk menjadi lebih banyak sehingga menyebabkan penurunan pH dan mengakibatkan kerusakan membran plasma sel spermatozoa (Amin dkk., 1999). Semakin lama waktu ekuilibrasi gliserol menyebabkan semakin banyak sel spermatozoa tua, abnormal dan mati (Toelihere, 1986).

Proses ekuilibrasi sebaiknya dilakukan selama minimal empat jam pada pengencer yang mengandung gliserol karena ekuilibrasi gliserol yang terlalu lama mempunyai pengaruh negatif terhadap sel spermatozoa (Toelihere, 1981 dan Hafez, 1993).

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang pengaruh waktu ekuilibrasi gliserol terhadap kualitas sel spermatozoa sapi Brahman dalam pengencer tris kuning telur setelah dibekukan, maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Waktu ekuilibrasi gliserol berpengaruh terhadap motilitas sel spermatozoa sapi Brahman setelah dicairkan. Waktu ekuilibrasi yang terbaik untuk motilitas sel spermatozoa adalah empat jam.
2. Waktu ekuilibrasi berpengaruh terhadap persentase hidup sel spermatozoa sapi Brahman setelah dicairkan. Waktu ekuilibrasi terbaik untuk persentase hidup sel spermatozoa adalah empat jam.

6.2. Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang aplikasi hasil semen beku sapi Brahman setelah dilakukan ekuilibrasi gliserol di lapangan.

RINGKASAN

Yudha Alfandhi. Pengaruh waktu ekuilibrasi gliserol terhadap kualitas sel spermatozoa sapi Brahman dalam pengencer tris kuning telur setelah dibekukan dibawah bimbingan Benyamin Chr Tehupuring, M.Si., Drh sebagai pembimbing pertama dan Prof. Dr. H. Sarmanu, M.S., Drh sebagai pembimbing kedua.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh waktu ekuilibrasi gliserol terhadap kualitas sel spermatozoa sapi Brahman dalam pengencer tris kuning telur setelah dibekukan dan untuk menambah wawasan serta data ilmiah sekaligus sebagai langkah awal membuka kemungkinan untuk pengembangan lebih lanjut.

Bahan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah semen segar dari sapi Brahman dengan kode nama ***TOMINI***. Semen segar yang diperoleh kemudian diproses menjadi semen beku dalam bentuk *straw*. Semen beku yang digunakan sebanyak 24 *straw* yang dibagi menjadi empat kelompok perlakuan yang masing - masing terdiri dari enam *straw*. Kelompok kontrol (P0), semen diekuilibrasikan selama nol sampai satu jam, kelompok perlakuan diekuilibrasi selama dua jam (P1), empat jam (P2) dan enam jam (P3).

Penelitian ini menggunakan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL). Data dianalisis dengan menggunakan *Analysis of Variance* (*ANAVA*) yang dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT 5%).

pembekuan lebih banyak dibandingkan dengan waktu ekuilibrasi gliserol selama empat jam (Herdis, 1999).

Waktu ekuilibrasi gliserol yang terlalu lama menyebabkan asam laktat yang terbentuk menjadi lebih banyak sehingga menyebabkan penurunan pH dan mengakibatkan kerusakan pada struktur membran plasma sel spermatozoa (Amin dkk., 1999). Semakin lama waktu ekuilibrasi gliserol menyebabkan semakin banyak sel spermatozoa yang tua, abnormal dan mati (Toelihere, 1986).

Proses ekuilibrasi gliserol sebaiknya dilakukan minimal selama empat jam pada bahan pengencer yang mengandung gliserol karena ekuilibrasi yang terlalu lama mempunyai pengaruh negatif terhadap antibiotika dan bersifat toksik bagi sel spermatozoa (Toelihere, 1981 dan Hafez, 1993).

DAFTAR PUSTAKA

Amin, M., M. R. Toelihere., T. Yusuf dan P. Situmorang 1999. Pengaruh Plasma Semen Sapi terhadap Kualitas Semen Beku Kerbau Lumpur (*Bubalus bubalis*) dalam: Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner. PUSLITBANGNAK. Jakarta. 143-147.

Anonim. 1990. Ensiklopedi Nasional Indonesia. Jilid 14 ORS SE. Cetakan pertama. PT. Cipta Adi Pustaka. Jakarta. 402-407.

Anonim. 1994. Budi Daya Ternak Sapi Potong. Direktorat Bina Produksi Peternakan Ditjen Peternakan Departemen Pertanian. Jakarta. 9.

Anonim. 1999[a]. Petunjuk Penampungan, Produksi, Distribusi dan Evaluasi Semen Beku. Balai Inseminasi Buatan Singosari. Malang. 5-25.

Anonim. 1999[b]. Usaha Penggemukan Sapi Potong. Tabloid TRUBUS. Nomor 352 Tahun ke XXX Edisi Maret 1999. 56-57.

Anonim .1999[c]. www.cptips.com/glycerl.htm.

Anonim . 2002[a]. www.infoplease.com/ce6/sci/A0821059 html.

Anonim. 2002[b]. Pejantan Sapi Potong dan Kambing. Balai Inseminasi Buatan Singosari. Malang. 29-33.

Anonim 2002[c]. Penyimpanan Spermatozoa dalam Bentuk Beku. Majalah TROBOS. Nomor 31 Tahun ke III Edisi April 2002. 31.

Anonim. 2004. Pejantan Sapi Potong di BIB Singosari..Majalah TROBOS. Nomor 60 Tahun ke V Edisi September 204. 10 – 14.

Anonim. 2004. Permasalahan, Penanganan dan Sasaran Pembangunan Peternakan 2004. Majalah Agribisnis Peternakan. Edisi Pertama Tahun 2004. Direktorat Jendral Peternakan. 7-27.

Arman, C dan R. Syahibuddin. 1993. Kemungkinan Pemanfaatan Semen Cair Sapi Brangus sebagai Pengganti Semen Beku dalam Rangka Program IB di Propinsi NTB dalam: Peternakan Sapi Bali dan Permasalahannya. Editor Suhubdi Yasin dan S.H Dilaga. PT. Bumi Aksara. Jakarta. 21-29.

Aziz, A. 1993. Agro Industri Sapi Potong (Prospek Pengembangan pada PJPT II) Penerbit Angkasa. Jakarta. 95-110.

Blakely, J dan D. H. Bade. 1991. Ilmu Peternakan Edisi keempat. Penerjemah Bambang Srigandono. Penyunting Soeharsono. Cetakan pertama. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 35-36.

Djanah, D. 1985. Mengenal Inseminasi Buatan. CV Simplex. Jakarta. 23-27.

Frandson, R. D. 1992. Anatomi dan Fisiologi Ternak. Penerjemah Srigandono dan Koen Praseno. Penyunting Soedarsono. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 785-789.

Gaspersz, V. 1994. Metode Perancangan Percobaan. Armico. Bandung. 35.

Hafez, E.S.E. 1970. Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animal. Lea and Febriger. Philadelphia. 67-69.

Hardijanto. 1994. Diktat Kuliah Ilmu Inseminasi Buatan. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya. 36-74.

Hardijanto., T. Sardjito., T.W. Suprayogi., T. Hernawati., S. Susilowati. 2000. Penuntun Praktikum Teknologi Reproduksi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya. 18 –20.

Hardjopranjoto, S. 1995. Ilmu Kemajiran pada Ternak. Airlangga University Press. Surabaya. 65, 298-301.

Herdis, B., Purwantara., I. Supriatna dan I.G Putu.1999. Integritas Spermatozoa Kerbau Lumpur (*Bubalis bubalis*) pada Berbagai Metode Pembekuan Semen. dalam: Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner Nomor 1 (4). 1999. 7-12.

Herliantien. 2000. Produksi Semen Beku dalam: Diktat Pelatihan Inseminator Sapi dan Kerbau Angkatan I 2002 FKH UNAIR Surabaya. BIB Singosari. Malang. 1-11.

Jasin, M. 1989. Biologi Umum Untuk Perguruan Tinggi. Penerbit Bina Pustaka Tama. Surabaya. 164-170.

Jasin, M. 1989. Sistematik Hewan Invertebrata dan Vertebrata untuk Universitas. Cetakan ketiga. Penerbit Sinar Wijaya. Surabaya. 362-365.

Kumada, Z., Herliantien dan Sarastina. 2002. Teknologi Prosesing Semen Beku pada Sapi. Cetakan pertama. Mei 2002. Balai Inseminasi Buatan Singosari-*JICA* Malang. 19-66.

Kusriningrum, S. 1989. Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya. 56-64.

Legates, J.E and E. J. Warwick. 1990. Breeding and Improvement of Farm Animal Eight Edition. Mc Graw Hill Publishing Company. New York. 49-53.

Mangkoewidjojo, S dan J. Smith. 1988. Pemeliharaan, Pembiakkan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis. Universitas Indonesia Press. Jakarta. 188-191.

Mathius, I. W. 2003. Basis Pengembangan Sapi Potong di Perkebunan Kelapa Sawit dalam: Warta LITBANG PERTANIAN. Nomor 5 (25) Tahun 2003. 1-4.

Mitchell, J.A., L. Nelson and E.S.E. Hafez. 1976. Motility of Spermatozoa in: Human Semen and Fertility Regulation in Men. Editor E.S.E. Hafez. CV Cosby Co St Louis. London. 83-100.

Murtidjo, A.B. 2000. Beternak Sapi Potong. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 24.

Nagase, H. 1972. Scientific and Technological Background of Pellet Freezing of Bull Semen. Edagtocole. Bologna. 189.

Pane, I. 1993. Pemuliabiakkan Ternak Sapi. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 28-144.

Partodihardjo, S. 1987. Ilmu Reproduksi Hewan. Edisi ketiga. Penerbit Mutiara. Jakarta. 7,53.

Perry, E. 1973. The Artificial Insemination of Farm Animal. Rutger University Press. New York. 119.

Rasbech, N.O. 1993. Artificial Insemination in: Reproduction in Domestical Animal. Editor G.Y. King. Elsevier Science Publisher BV. Amsterdam, Netherland.170-371.

Salisburry, G.W dan N.L. Vandemark.1985. Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi. Penerjemah R. Djanuar. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 270-386.

Saraswati. T. 1994. Pengaruh Kadar Glukosa Total Protein Serum Darah Terhadap Fertilitas Pada Sapi Perah. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.

Sastroamidjojo, S dan Soeradji. 1990. Peternakan Umum. CV Yasaguna. Jakarta. 42-43.

Soehadi, K dan K. M. Arsyad. 1982. Analisis Sperma. Airlangga University Press. Surabaya. 10-16.

Suparto dan Sumardi. 1991. Penambahan Berat Badan, Karkas dan Komponen Kimia Daging Sapi, Kaitannya dengan Bangsa dan Macam Pakan Penggemukan. dalam: Jurnal Ilmiah Penelitian Ternak Grati. Sub Balai Penelitian Ternak Grati. Pasuruan. Nomor 1 (2) Juli 1991. 9-13.

Suryabrata, S. 1998. Metodologi Penelitian. PT Raja Grafindo Persada. Jakarta. 29-33.

Tjokrodanoerdjo, H. 1986. Ilmu Kimia Karbon. Penerbit Erlangga. Jakarta. 235-237.

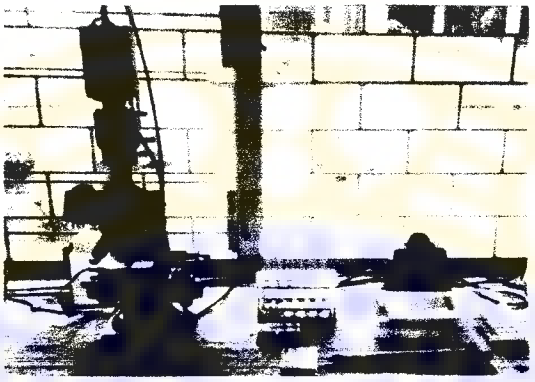
Toelihere, M. 1981. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Cetakan kesepuluh. PT Angkasa. Bandung. 119-122.

Toelihere, M. 1986. Inseminasi Buatan Pada Ternak. PT Angkasa. Bandung. 75-105.

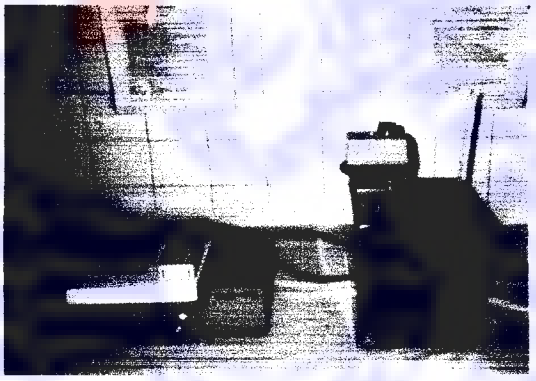
Wahju, J. 1992. Ilmu Nutrisi Unggas. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 35-38.

Williamson, G dan W.J.A. Payne. 1993. Pengantar Peternakan di Daerah Tropis. Penerjemah S.G.N. Djiwa Darmadja. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 182-217.

Zaneveld, L.J.D. 1976. Sperm Enzym Inhibitors an Antifertility Agents in: Human Semen and Fertility Regulation in Men. Editor E.S.E. Hafez CV Mosby Company St Louis. London. 576-578.

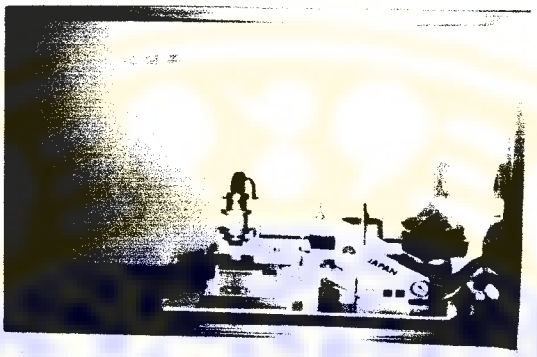


Gambar 1. Mikroskop cahaya, tabung reaksi, mikropipet, gelas obyek.

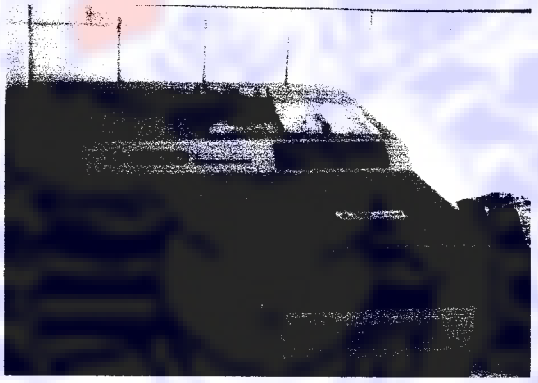


Gambar 2. *Homogenizer* dan *Waterbath*

Gambar 3. *Printing Machine*



Gambar 4. *Filling and Sealing Straw*



Gambar 5. Spektrofotometer

Lampiran 1. Pemeriksaan Makroskopis dan Mikroskopis Semen Segar Sapi Brahman (Kode nama *TOMINI*)

Karakteristik	Sapi Brahman dengan kode nama *TOMINI*
1. Volume (ml)	5,4
2. Gerakan Massa	+++
3. Konsentrasi (10^9)	1,625
4. pH	6,4
5. Motilitas (%	70 %
6. Hidup (%)	85%
7. Abnormal (%)	5%

Catatan :
Sapi Brahman dengan kode nama *TOMINI* dipakai sebagai bahan penelitian.

Lampiran 2. Motilitas Sel Spermatozoa Sapi Brahman Setelah dibekukan dalam Persen

Ulangan	P0	P1	P2	P3
1	40	40	45	45
2	34	40	50	50
3	40	45	45	50
4	35	40	45	45
5	40	40	45	45
6	35	40	50	45
$\sum X$	225	245	280	270
$\bar{X}$	37,5	40,8333	46,6667	45
SD	4,1833	2,0412	3,7417	3,1623

Lampiran 3. Persentase Hidup Sel spermatozoa Sapi Brahman Setelah Dibekukan dalam Persen

Ulangan	P0	P1	P2	P3
1	55	60	60	60
2	50	55	65	60
3	45	45	60	60
4	55	60	60	60
5	60	60	60	60
6	50	60	60	55
$\sum X$	315	340	365	355
$\bar{X}$	52,5	56,6667	60,83	59,1667
SD	5,244	6,0553	2.0412	2,0412

Lampiran 4. Evaluasi Statistik Persentase Motilitas Sel Spermatozoa Sapi Brahman setelah dibekukan Berdasarkan Waktu Ekuilibrasi Gliserol dalam Pengencer Tris Kuning Telur pada Akhir Percobaan

Ulangan	P0	P1	P2	P3
1	40	40	45	45
2	35	40	50	50
3	40	45	45	50
4	35	40	45	40
5	40	40	45	45
6	35	40	50	40
$\sum X$	225	245	280	270
$\bar{X}$	37,5	40,8333	46,6667	45
SD	4,1833	2,0412	3,7417	3,1623

$$FK = \frac{(1020)^2}{24} = 43350$$

$$JKT = (40)^2 + (35)^2 + (40)^2 + \ldots\ldots + (40)^2 - FK$$

$$= (40)^2 + (35)^2 + (40)^2 + \ldots\ldots + (40)^2 - 43350$$

$$= 43850 - 43350$$

$$= 500$$

$$JKP = \frac{(225)^2 + (245)^2 + (280)^2 + (270)^2}{6} - FK$$

$$= \frac{(225)^2 + (230)^2 + (280)^2 + (245)^2}{6} - 43350$$

$$= 43658{,}3333 - 43350$$

$$= 308{,}3333$$

JKS = JKT – JKP

= 500 – 308,3333

= 191,6667

Kuadrat Tengah dihitung sebagai berikut :

$$KTP = \frac{JKP}{t-1} = \frac{308,3333}{3} = 102,7778$$

$$KTS = \frac{JKS}{t(n-1)} = \frac{191,6667}{20} = 9,5833$$

$$F_{Hit} = \frac{KTP}{KTS} = \frac{102,7778}{9,5833} = 10,7247$$

Daftar Sidik Ragam

SK	Db	JK	KT	F_{Hit}	$F_{Tabel}(0,05)$
Perlakuan	3	308,3333	102,7778	10,7247*	3,10
Sisa	20	191,6667	9,5833		
Total	23	500			

Analisis dengan menggunakan Uji F menunjukkan F Hitung > F Tabel, sehingga dari keempat perlakuan tersebut terdapat perbedaan yang nyata terhadap motilitas sel spermatozoa

Uji Beda Nyata Terkecil (BNT 5 %)

$$BNT(\alpha) = t(\alpha)\,(db.sisa) \times \frac{2KTS}{n}$$

$$BNT(5\%) = t(5\%)\,(20) \times \frac{2X6,25}{6}$$

= 2,086 X 1,7873

= 3 ,7283

Selisih rata – rata Perlakuan

Perlakuan	Rata – rata Perlakuan	Beda Selisih			BNT(5%)
		X – P0	X - P1	X - P3	
P2	46,6667 [a]	9,1667*	8,3334*	4,1667*	3,7283
P3	45 [ab]	7,5*	4,1667*		
P1	40,8333 [c]	3,3333			
P0	37,5 [c]				

Notasi

P2	P3	P1	P0
a	a		
	b		
		c	c

Analisa statistik dengan Uji BNT menunjukkan kelompok Perlakuan dua (P2) mempunyai persentase motilitas tertinggi dibandingkan dengan Perlakuan tiga (P3), Perlakuan satu (P1) dan kelompok kontrol (P0). Sedangkan kelompok kontrol (P0) tidak berbeda nyata dengan perlakuan satu (P1).

Lampiran 5. Evaluasi Statistik Persentase Daya Hidup Sel Spermatozoa Sapi Brahman setelah dibekukan Berdasarkan Waktu Ekuilibrasi dalam Pengencer Tris Kuning Telur pada Akhir Percobaan

Ulangan	P0	P1	P2	P3
1	55	60	60	60
2	50	55	65	60
3	45	45	60	60
4	55	60	60	60
5	60	60	60	60
6	50	60	60	55
$\sum X$	315	340	365	355
$\bar{X}$	52,5	56,6667	60,83	59,1667
SD	5,244	6,0553	2,0412	2,0412

FK $= \frac{(1375)^2}{24} = 78776{,}0416$

JKT $= (55)^2 + (50)^2 + (45)^2 + \ldots\ldots + (55)^2 - FK$

$= (55)^2 + (50)^2 + (45)^2 + \ldots\ldots + (55)^2 - 78776{,}0416$

$= 79375 - 78776{,}0416$

$= 598{,}9584$

JKP $= \frac{(315)^2 + (340)^2 + (365)^2 + (355)^2}{6} - FK$

$= \frac{(315)^2 + (340)^2 + (365)^2 + (355)^2}{6} - 78776{,}0416$

$= 79012{,}5 - 78776{,}0416$

$= 236{,}4584$

JKS $= JKT - JKP$

$= 598{,}9584 - 236{,}4584$

= 362,5

Kuadrat Tengah dihitung sebagai berikut :

$$KTP = \frac{JKP}{t-1} = \frac{236,4584}{3} = 78,8195$$

$$KTS = \frac{JKS}{t(n-1)} = \frac{362,5}{20} = 18,125$$

$$F_{Hit} = \frac{KTP}{KTS} = \frac{78,8195}{18,125} = 4,3486$$

Daftar Sidik Ragam

SK	Db	JK	KT	F_{Hit}	$F_{Tabel}(0,05)$
Perlakuan	3	236,4584	78,8195	4,3486*	3,10
Sisa	20	362,5	18,125		
Total	23	598,9584			

Analisis dengan menggunakan Uji F menunjukkan F Hitung > F Tabel, sehingga dari keempat perlakuan tersebut terdapat perbedaan yang nyata terhadap daya hidup sel spermatozoa

Uji Beda Nyata Terkecil (BNT 5 %)

$$BNT(\alpha) = t(\alpha)\ (db.sisa) \times \frac{2KTS}{n}$$

$$BNT(5\%) = t(5\%)\ (20) \times \frac{2 \times 18,125}{6}$$

$$= 2,086 \times 2,4579$$

$$= 5,1271$$

Selisih rata – rata Perlakuan

Perlakuan	Rata – rata Perlakuan	Beda Selisih			BNT(5%)
		X – P0	X - P1	X - P3	
P2	60,83 [a]	8,33*	4,1633	1,6633	5,1271
P3	59,1667 [ab]	6,667	2,4997		
P1	56,6667 [ab]	4,1667			
P0	52,5 [c]				

Notasi

P2	P3	P1	P0
a	a	a	
	b	b	
			c

Analisa statistik dengan Uji BNT menunjukkan kelompok Perlakuan dua (P2) mempunyai persentase daya hidup tertinggi dibandingkan dengan Perlakuan tiga (P3), Perlakuan satu (P1) dan kelompok kontrol (P0).. Sedangkan kelompok kontrol (P0) tidak berbeda nyata dengan perlakuan satu (P1). Perlakuan tiga (P3) berbeda nyata dengan perlakuan satu (P1).

Lampiran 6. Bahan pengencer tris kuning telur

Dalam 1000 ml larutan terdiri atas :

- **Pengencer A**

- Tris Amino Methan	13,63	g
- Na sitrat	7,62	g
- Laktosa	15	g
- Fruktosa	3,75	g
- Raffinosa	27	g
- Kuning telur	200	cc
- Pennicilin	1 Juta	*IU*
- Streptomicin	1	g
- Aquades	755	cc

- **Pengencer A + Gliserol 14 %** **(Pengencer B)**

Prosedur pengenceran

Volume ejakulat	:	(a)	ml
Konsentrasi spermatozoa	:	(x 10^n)	/ml
Volume 1 dosis mini straw	:	(q)	ml
Konsentrasi 1 dosis mini straw	:	(y 10^n)	

Besarnya pengenceran

$$: \frac{a \times 10^n}{y\ 10^n}$$

$$= (p) \text{ kali}$$

(dapat menghasilkan sebanyak (p) buah mini straw)

Volume akhir dengan p kali pengenceran

= (pq) ml

Volume Pengencer B = $\frac{(pq - a)}{2}$ ml

= (B) ml

Volume Pengencer A_2 = (B – a) ml

Volume Pengencer A_1 = sama dengan volume semen segar

= (a) ml

Volume semen segar = (a) ml +

Total Volume semen dan pengencer = (pq) ml

- Pengencer A disiapkan dalam air yang bersuhu 37^0 C
- Pengencer B disiapkan dalam lemari es yang bersuhu $3^0 - 5^0$ C
- Selanjutnya volume semen segar sebanyak (a) ml dimasukkan dalam gelas ukur yang mempunyai volume 100 ml dan kemudian ditambahkan pengencer A_1 = volume semen (a) ml
- Mempersiapkan kebutuhan pengencer A_2 = (b – a) ml pada gelas ukur berikutnya berikut termometernya
- Kesemuanya dimasukan ke dalam bekker glas 1000 cc yang telah diisi dengan air yang bersuhu 37^0 C dan diletakkan dalam lemari es bersuhu $3^0 - 5^0$ C
- Apabila air dalam bekker glass suhunya turun menjadi 12^0 C maka pengencer A_2 dimasukkan dalam gelas ukur 1000 cc yang telah berisi semen segar pengencer A_1

- Untuk pengencer B sebanyak (B) ml penambahan dilakukan secara perlahan – lahan tetes demi tetes, pengencer B ditambahkan bila suhu air dalam bekker glass turun menjadi 5^0 C.

Proses pengenceran selesai bila total volume terpenuhi = (pq) ml (Herliantien, 2002).

Lampiran 7. Proses Pembuatan Semen Beku

Penampungan Semen

↓

Evaluasi Makroskopis

↓

Prae Dilution (A1)

↓

Evaluasi Mikroskopis

↓

Diluter A2
Penambahan Diluter A2
(setengah dari total volume)
pada suhu 4° sampai 7° C

↓

Diluter B
Ekuilibrasi Gliserol
(nol sampai 4 jam)
Evaluasi *before freezing*
Printing straw
Injection dan *sealing* dengan *ultra sonic filling and sealing machine*

↓

Prae Freezing
Rak *straw* di atas Nitrogen cair setinggi 5 cm
Selama 9 menit

↓

Freezing
Direndam dalam nitrogen cair suhu –196 ° C

↓

Thawing

↓

Evaluasi *Post Thawing Motility (PTM)*
Syarat untuk IB
Motilitas ≥ 40 %
Konsentrasi Spermatozoa motil ≥ 10 juta /dosis

ADLN - Perpustakaan Universitas Airlangga

DEPARTEMEN PERTANIAN
DIREKTORAT JENDERAL BINA PRODUKSI PETERNAKAN
BALAI INSEMINASI BUATAN DI SINGOSARI

Kotak Pos 08 Singosari 65153
M A L A N G
Email :bibsingosari@malang.wasantara.net.id
Website : //bitnak.ditjennak.deptan.go.id/pls

Telp.(0341) 458359
458669
Fax. (0341) 458359

SURAT KETERANGAN

Nomor : 120 /SM.550/f2k2/11.04

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : **Drh.SARASTINA.**

N I P : **080 109 336**

Pangkat/Golongan : **Penata TK.I (III.d)**

Jabatan : **a.n.Kepala Balai Inseminasi Buatan Di Singosari**

Kepala Seksi Pelayanan Teknis Produksi Semen

Menerangkan bahwa Mahasiswa Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya :

Nama : **Yudha Alfandhi**

N I M : **069812524**

Yang bersangkutan telah melakukan ***Penelitian*** mulai tanggal ***08 s/d 30 Nopember 2004*** di Balai Inseminasi Buatan Di Singosari dengan judul ;

"Pengaruh waktu ekuilibrau gliserol terhadap kualitas sel spermatozoa sapi Brahman dalam pengencer tris kuning telur setelah dibekukan".

Demikian surat keterangan ini diberikan untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Singosari, 30 Nopember 2004
a.n.KEPALA BALAI INSEMINASI BUATAN
DI SINGOSARI,
Kepala Seksi Yantek Produksi Semen,

DEPARTEMEN PERTANIAN
Balai Inseminasi Buatan Singosari
DIREKTORAT JENDRAL PETERNAKAN

Drh.SARASTINA.
NIP. 080 109 336