**PENGARUH PENGENCERAN DENGAN /AIR BUAH LONTAR *(Borassus flabelliter)* PADA 50 C TERHADAP KUALITAS SEMEN SEGAR SAPI BALI**

**Ivan Jacson Nani, Ir. Setyo Utomo M.P dan Ir. Nur Rasminati M.P**

**INTISARI \*)**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pengunaan pengencer air buah lontar-kuning telur dalam mempertahankan motilitas, viabilitas, dan abnnormlitas spermatozoa sapi Bali selama penyimpananpada suhu 50 C. Penelitian ini dilakukan pada tanggal 5 Juni - 5 Juli 2019 bertempat di Laboratorium Biologi Reproduksi dan Kesehatan Ternak Universitas Nusa Cendana Kupang Provinsi Nusa Tenggara Timur, kota Kupang. Metode yang digunakan adalah metode eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola searah dengan 4 perlakuan, masing-masing perlakuan diulang 4 kali yaitu P0 kuning telur 100% (kontrol), P1 sitrat-kuning telur 90 % + air buah lontar 10 %, P2 sitrat-kuning telur 80 % + air buah lontar 20 % dan P3 sitrat-kuning telur 70 % + air buah lontar 30 %.Variabel yang diamati adalah motilitas, viabilitas dan abnormalitas. Data hasil penelitian dianalisis dengan analisis variansi, apabila terdapat perbedaan pada hasil analisis variansi, maka dilanjutkan dengan uji lanjut yaitu *Duncan’s Multiple Range Test* (DMRT). Berdasarkan analisis variansi diketahui bahwa penggunaan pengencer buah lontar memberikan pengaruh berbeda nyata (p<0,05) terhadap motilitas P2 56.7 ± 4.43d terbaik diantara perlakuan yang lain yaituP0 49.15± 5.74a, P1 51.3 ± 6.23b dan P3 55.2 ± 5.00c, viabilitas P2 64.6± 5.73d terbaik dibandingkan perlakuan lain yaitu P0 55.95 ± 4.81a, P1 57.6 ± 6.49b dan P3 60.65 ± 5.25c pada abnormalitas P2 4.83 ± 1.19b lebih baik dari pengencer lainnya yaitu P0 4.88 ± 0.59a, P1 4.86 ± 1.09d dan P3 4.84 ± 1.20c. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa penambahan pengencer air buah lontar 20% yang terbaik dan efektif untuk mempertahankan motilitas, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa sapi Bali.

**Kata Kunci:** semen, air buah lontar, sitrat, motilitas, viabilitas, abnormalitas.

**ABSTRACT \*)**

Thus study aims at finding out the effect of using dilution of palmyra palm water-yolk in retaining the motility, viability, and abnnormality of Bali cow spermatozoa during the storage in 50 C temperature. This study was conducted on June 5 unuil July 5 2019 in *Laboratorium Biologi Reproduksi dan Kesehatan Ternak Universitas Nusa Cendana Kupang* Easr Nusa Tenggara province, Kupang. Experimental study was implemented by using one way pattern of Complete Random Design with 4 treatments, each was repeated 4 times that is P0 yolk 100% (controlled), P1 citric acid-yolk 90 % + palmyra palm water 10 %, P2 citric acid-yolk 80 % + palmyra palm water 20 % and P3 citric acid-yolk 70 % + palmyra palm water 30 %.The observed variable are motility, viability, and abnnormality. The data were analysed using variance analysis, if there is difference on the result of variance analysis, then the test is continued with Duncan’s Multiple Range Test (DMRT). Based on the variance analysis, it is found that the use of dilution of palmyra palm fruit give effect (p<0,05) toward motility P2 56.7 ± 4.43d the best compared to the other treatments that is P0 49.15± 5.74a, P1 51.3 ± 6.23b and P3 55.2 ± 5.00c, viability P2 64.6± 5.73d the best compared to other treatments that is P0 55.95 ± 4.81a, P1 57.6 ± 6.49b and P3 60.65 ± 5.25c on abnormality P2 4.83 ± 1.19b is better than other dilution that is P0 4.88 ± 0.59a, P1 4.86 ± 1.09d and P3 4.84 ± 1.20c. From the result it can be consluded that the addition of dilution of palmyra palm wateer 20% is the best and the most effective in retaining motility, viability, and abnnormality of spermatozoa of Bali cow.

**Keywords:** cement, palmyra palm water, citrac, motility, viability and abnnormality.

**PENDAHULUAN**

**Latar Belakang**

Rendahnya produktivitas ternak lokal Indonesia mendorong beberapa teknologi untuk diterapkan guna mengatasi permasalahan tersebut. Salah satu teknologi yang sering diaplikasikan yaitu teknologi Inseminasi Buatan. Inseminasi buatan merupakan salah satu teknologi reproduksi yang dapat meningkatkan mutu genetik dan menghindari inbreeding serta penularan penyakit veneralis (Hafez, 2000 dan Juhani, 2009). Inseminasi buatan dapat meningkatkan efisiensi reproduksi (Hafez 2000). Teknologi reproduksi IB sudah lama diperkenalkan dan diterapkan, keberhasilan dan kegagalan IB dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor. Faktor-faktor tersebut diantaranya; peternak, petugas dan ternak sapi betina serta kualitas semen pejantan (Saacke, 2008; Roelofs *et al*., 2010).

 Sapi Bali merupakan salah satu jenis sapi lokal Indonesia yang berasal dari Bali yang sekarang telah menyebar hampir ke seluruh penjuru

Indonesia bahkan sampai luar negeri seperti Malaysia, Filipina, dan Australia (Oka, 2010). Sapi Bali memiliki keunggulan dibandingkan dengan sapi lainnya antara lain mempunyai angka pertumbuhan yang cepat, adaptasi dengan lingkungan yang baik, dan penampilan reproduksi yang baik. Sapi Bali merupakan sapi yang paling banyak dipelihara pada peternakan kecil karena fertilitasnya baik dan angka kematian yang rendah sehingga perlunya penerapan teknologi inseminasi buatan. (Purwantara *et al*., 2012).

 Dalam meningkatkan produktivitas ternak lokal teknologi reproduksi IB sangat diperlukan untuk mengatasi masalah rendahnya produktivitas ternak di Indonesia. Preservasi semen memiliki arti yang sangat penting dalam penerapan bioteknologi Inseminasi Buatan (IB) pada berbagai jenis hewan khususnya sapi. Dengan melakukan preservasi maka spermatozoa yang terdapat didalam semen akan bertahan hidup lebih lama sehingga semen dari satu ejakulat dapat digunakan dalam suatu periode waktu yang lebih panjang untuk inseminasi pada sejumlah

betina. Preservasi semen hanya dimungkinkan pada suhu yang lebih rendah dari suhu tubuh karena pada suhu yang demikian derajat metabolisme sel menjadi rendah sehingga memperpanjang daya hidup spermatozoa (Lemma, 2011).

Penggunaan teknik IB berkaitan erat dengan kualitas spermatozoa. Kualitas spermatozoa dipengaruhi oleh faktor internal (umur, bangsa dan genetik) maupun faktor eksternal (pakan, lingkungan dan pengencer yang digunakan misalnya Andromed, Tris Kuning Telur dan lain-lain). Semen yang umum digunakan untuk melakukan inseminasi yaitu semen beku dan semen cair

 Untuk memastikan semen dari satu ejakulat dapat digunakan dalam suatu periode waktu yang lebih panjang semen segar perlu diencerkan agar menjadi semen cair atau bisa juga diproses menjadi semen beku, pengenceran semen dapat dilakuakan menggunakan bahan-bahan yang mengandung nilai gizi tinggi seperti kuning telur, tris-sitrat dan susu skim.

 Kuning telur merupakan komponen yang paling umum yang digunakan untuk bahan pengencer dan memilik efek yang menguntungkan sebagai pelindung dari membran plasma dan akrosom terhadap *cold shock* (Amirad *et* *al.* 2004). Berbagai protein-asam amino seperti *tyroxin, tryptohan, phenylalanin.* Menghasilkan Hidrogen peroksida pada deaminasi oksidatif : Vitamin-vitamin yang larut dalam air/minyak memiliki viskositas yang sungguh menguntunkan *spermatozoa* (Yuwanta, 2010).

 Air buah lontar (*Borassus flabelliter*) merupakan salah satu bahan alternatif yang dapat digunakan sebagai pengencer semen sapi karena mengandung karbohidrat yang cukup tinggi. Menurut Dahlan (2011), kandungan karbohidrat sabut siwalan sangat tinggi yaitu 87,73 % dan kandungan gula total mencapai 5 %-15 %. Kandungan karbohidrat yang merupakan senyawa kompleks dari glukosa cukup tinggi, mampu memberikan suplai makanan yang banyak pada pertumbuhan mikroba.

Dalam peneltian ini penulis ingin mengetahui pengaruh bahan pengencer air buah lontar yang dikombinasikan dengan sitrat kuning telur terhadap kualitas semen cair sapi Bali.

**Tujuan Penelitian**

 Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penggunaan pengencer air buah lontar- sitrat kuning telur serta lama penyimpanan pada 50C terhadap kualitas semen sapi Bali.

**Manfaat Penelitian**

Sebagai informasi bagi masyarakat dan peternak mengenai penggunaan air buah lontar dalam pengenceran semen terhadap kualitas sperma sapi Bali.

 Menambah ilmu pengetahuan tentang manfaat air buah lontar dan kualitas air buah lontar yang digunakan sebagai bahan pengencer. Diharapkan dapat dipergunakan sebagai sarana untuk menamabah pengetahuan mengenai bahan pengenceran selama dibangku perkuliahan dan bermanfaat khususnya pada bidang peternakan.

**MATERI DAN METODE**

**Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini akan dilakukan pada tanggal 5 Juni - 5 Juli 2019 bertempat di Laboratorium Biologi Reproduksi dan Kesehatan Ternak Universitas Nusa Cendana Kupang Provinsi Nusa Tenggara Timur, Kota Kupang.

**Materi Penelitian**

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah semen cair berasal dari sapi Bali berumur 4 tahun yang ditampung di Laboratorium Biologi Reproduksi dan Kesehatan Ternak Universitas Nusa Cendana Kupang Provinsi Nusa Tenggara Timur, Kota Kupang.Ternak jantan yang digunakan dalam penelitian ini berjumlah satu ekor.

**Alat**

 Vagina buatan, mikroskop, *Hemocytometer*, parang steril, spuit steril, gelas ukur, cororng, kertas alumunium steril, termos (suhu 450 C) tabung kecil, meja pemanas (370 C) kertas saring, gelas ukur, lemari pendingin 50 C.

**Bahan**

 Buah lontar, semen segar sapi Bali, kuning telur Ayam, 2,9 g Natrium Sitrat dalam 100 mL aquades; penisilin 1000 IU dan strepromisin 1mg µg per mL pengencer.

**Metode Penelitian**

 Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola searah, yang terdiri dari 4 perlakuan dan 4 kali penampungan sebagai berikut:

P0 :semen + sitrat kuning telur 100% sebagai pengontrol

P1 : semen + sitrat kuning telur 90% + Air buah lontar 10%

P2 : semen + sitrat kuning telur 80% + Air buah lontar 20%

P3 : semen + sitrat kuning telur 70% + Air buah lontar 30%

Diagram Alur Penelitian

Menyiapkan peralatan

Pembuatan Pengencer

Penampungan semen sapi

Evaluasi semen

Pengenceran semen

Semen + SKT 100%

Semen + SKT + ABL 10 %

Semen + SKT + ABL 20 %

Semen + SKT + ABL 30 %

Menyimpan pada suhu 50C

Melakukan pengamatan terhadap motilitas, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa setiap 24 jam dimulai dari 0 jam, hari 1, 2, 3 dan 4.

 Pembuatan pengencer sitrat :

Tabel 3. Bahan dan takaran pengencer sitrat.

|  |  |
| --- | --- |
| Bahan | Takaran |
| Sitrat (g) | 2,9 |
| Aquabidest (ml) | 100 |

1. Timbang 2,9 g dihidro Na citrat dan masukan kedalam tabung erlenmeyer yang berisi 100 ml aquadest
2. Panaskan sampai mendidih di atas api bunsen kemudian dinginkan
3. Buffer sitrat dapat dipakai untuk pengencer, buffer sitrat dapat tahan lama dan disimpan dalam lemari es dengan temperatur 50C.
4. Pembuatan sitrat-kuning telur :
5. Telur ayam dibersihkan dengan alkohol 70%.
6. Setelah kering pecahkan kulit telur kira-kira di tengah.
7. Pisahkan antara kuning telur dan putihnya, kuning telur yang masih terbungkus dengan selaput vitelinnya diletakan diatas kertas saring, kemudian miringkan berputar sehingga putih telur dapat terserap habis.
8. Pecahkan selaput vitelinnya, masukan kuning telur kedalam gelas ukur.
9. Pembuatan sediaan pengencer dasar, bahan dan takaran pengencer tersaji pada Tabel 4:

Tabel 4 Bahan pembuatan pengencer kerja.

|  |  |
| --- | --- |
| Bahan | Pengencer |
| 1 | 2 |
| Sitrat (g) | 2,9 | - |
| Air Buah Lontar (mL) | - | 70 |
| Kuning Telur (%) | 30 | 30 |
| Sterptomisin (mg/ml) | 1 | 1 |
| Pensilin (IU/ml) | 1000 | 1000 |
| Aquabidest *add* (ml) | 100 | 100 |
|  |  |  |

1. Buah Lontar yang masih muda dipotong lalu airnya disedot dengan spoit steril dan masukan kedalam gelas ukur.
2. Pesiapkan kuning telur.
3. Buat pengencer dengan perbandingan 4 bagian Air Buah Lontar dan 1 bagian Kuning Telur.
4. Pengencer dibuat : KT : Citrat = 1 : 4
5. Tambahkan 1000 unit penicillin dan 1000 mikro g streptomycin yang sebelumnya dilarutkan dalam aquades steril atau buffer.

Sediaan pengencer tersedia dalam keadaan segar setiap hari sebelum dipakai (taruh dalam 5 derajad C)

1. Penampungan semen
2. Siapkan alat dan bahan berupa 1 set vagina buatan dengan suhu maksimal 42-440 C, tabung penampung, termos air panas 50-550 C, thermometer, vaselin sebagai pelicin dan plastik tempat penampung.
3. Siapkan betina pada kandang jepit lalu dekatkan dengan penjantan, pada saat pejantan menaiki betina pertama kali, cegah penis untuk masuk ke kelamin betina dengan memegang preputiumnya lalu biarkan penanjatan turun dari betina, saat pejantan menaiki betina kedua kalinya penggang preputiumnya arahkan penis ke vagina buatan, bila terasa ada gerakan ejakulasi yaitu dorongan kencang maka lepaskan vagina buatan bersamaan dengan turunnya pejantan dari betina, jika ejakulasi ada pada tabung lakukan gerakan angka delapan agar semua semen hasil ejakulasi tertampung dalam tabung penampung semen, semen hasil ejakulasi langsung di evaluasi.
4. Pengenceran dan pembuatan semen cair.

Pengenceran dilakukan agar semen yang diperoleh dari satu kali ejakulat dapat digunakan untuk inseminasi buatan pada beberapa betina, berikut adalah perhitungan dan cara :

1. Siapkan semen dan bahan pengencer
2. Evaluasi semen
3. Hitung jumlah pengencer yang dibutuhkan dengan rumus :

|  |  |
| --- | --- |
| Kadar pengencer (ml) | Motilitas (%) x kosentrasi (10)6  |
| 5 juta |

Contoh : = 80 % x 1.260 juta

 5 juta

Pengenceran dan pembuatan semen cair.

Pengenceran dilakukan agar semen yang diperoleh dari satu kali ejakulat dapat digunakan untuk inseminasi buatan pada beberapa betina, berikut adalah perhitungan dan cara :

1. Siapkan semen dan bahan pengencer
2. Evaluasi semen
3. Hitung jumlah pengencer yang dibutuhkan dengan rumus :

|  |  |
| --- | --- |
| Kadar pengencer (ml) | Motilitas (%) x kosentrasi (10)6  |
| 5 juta  |

Contoh : = 80 % x 1.260 juta

 5 juta

Artinya, setiap mL semen ditambahkan pengencer hingga mencapai volume total 5.040.

1. Melaksanakan Pengenceran:
* Ukur larutan pengencer sesuai yang dibutuhkan.
* Tambahkan pengencer dengan 500 – 1000 IU penisilin dan 500 – 1000 mikrogram streptomycin per ml bahan pengencer.
* Campur dengan cara tuangkan bahan pengencer kedalam tabung yang telah terisi semen secara bertahap, dimulai dari perbandingan yang sama, pengencer harus diusahakan mengalir secara perlahan-lahan dari dinding dinding tabung, lalu goyangkan perlahan-lahan, dilakukan pada suhu kamar 220–270C.
* Masukan semen yang telah diencerkan kedalam tabung-tabung yang telah diberi label sesuai jumlah perlakuan.
* Periksa motilitas spermatozoa setalah melakukan pengenceran.
* Masukan tabung berisis semen kedalam bejana berisi air dan disimpan di lemari pendingin dengan suhu 3-50 C.
* Lalu evaluasi semen setiap 24 jam sekali selama 4 hari.

**Parameter yang diamati**

1. Motilitas

 Motilitas yaitu gerak individu spermatozoa dengan pengukuran 12 jam dalam sekali perlakuan. Motilitas dengan progresif dihitung menggunakan lensa objektif dengan pembesaran 10x45 yang dihitung dalam %, karena merupakan salah satu kriteria penentu kualitas semen dilihat dari berapa banyaknya sperma yang bergerak dibandingkan dengan sperma yang diam.

1. Viabilitas

 Viabilitas yaitu pemeriksaan hidup dan mati semen. Semen (segar dan perlakuan) diteteskan pada gelas objek menggunakan ose. Eosin-negrosin diteteskan menggunakan eosin lain, kemudian keduanya dicampur. Campuran semen dengan eosin-negrosin dibuat olesan dengan ujung gelas objek yang lain hingga didapatkan olesan sepanjang permukaan gelas objek.

 Preparat ulas dikeringkan kemudian diamati dengan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x. Spermatozoa yang masih hidup tidak berwarna sedangkan yang sudah mati berwarna merah.

rumus yaitu:

spermatozoa hidup X 100%

total spermatozoa

1. Abnormalitas

Abnormalitas yaitu Ketidaknormalan bentuk spermatozoa dalam suatu contoh semen perlu diketahui karena tingkat abnormalitas tersebut berkaitan erat dengan tingkat kesuburan (*fertilitas*) dari pejantan yang ditampung semennya. Cara penentuan abnormalitas spermatozoa dengan metode pewarnaan diferensial dengan meneteskan satu tetes contoh semen di atas gelas objek. Kemudian ditetesi dengan larutan warna eosin-negrosin. Lakukan pencampuran dan lakukan prosedur seperti pada gambar 3. Selanjutnya dilakukan pengamatan di bawah mikroskop dengan pembesaran 10 x 40 atau 10 x 100. Amati sebanyak kurang lebih 200 sel spermatozoa. Hitunglah jumlah spermatozoa yang bentuknya normal, misalkan A sel dan yang berbentuk abnormal, misalkan B sel. Maka tingkat abnormalitas spermatozoa dalam contoh semen dapat diketahui dengan rumus:

jumlah spermatozoa normal X 100%

 total spermatozoa

**Analisis Data**

Data penelitian yang didapatkan akan dianalisis secara variansi, apabila didapatkan hasil yang berbeda nyata akan dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range test* ( DMRT ).

Metode Sistematik yang digunakan adalah:

 Yijk = µ + αi + βj + (αβ) ij + ∑ jk

dengan :

* Yijk yaitu Nilai pengamatan pada satuan percobaan yang memperoleh perlakuan taraf ke-i dari factor bahan pengencer dan taraf ke-j dari factor lama penyimpanan .
* M adalah Nilai Tengah Umum
* Ai adalah Pengaruh taraf ke-i dari faktor bahan pengencer
* Bj adalah Pengaruh taraf ke-j dari faktor lama penyimpanan
* (αβ) ij adalah Pengaruh interaksi dari taraf ke-i dan faktor bahan pengencer dan taraf ke-j dari lama penyimpanan
* ∑ jk adalah Pengaruh galat pada satuan percobaan yang memperoleh perlakuan taraf ke-i dari faktor bahan pengencer dan taraf ke-j dari faktorlama penyimpanan dan ulangan ke-k (Ekaninta, 2001).

**HASIL DANPEMBAHASAN**

1. Evaluasi Semen Segar Sapi Bali

 Evaluasi semen segar sapi Bali dalam penelitian ini ditentukan dengan dua cara yaitu makrokopis dan mikrokopis. Secara makrokopis dilihat tanpa menggunakan mikroskop yang meliputi volume, warna, konsistensi, bau dan pH, pemeriksaan secara mikrokopis diperiksa dengan mikroskop 10x10, yaitu meliputi gerak massa, konsentrasi, motilitas dan pewarnaan differensial yang meliputi pemeriksaan viabiltas (hidup/mati) serta abnormalitas spermatozoa.

 Hasil evaluasi semen sapi Bali ini dibutuhkan untuk menentukan kualitas semen yang selanjutnya dijadikan indikator dapat atau tidaknay semen tersebut untuk diproses lebeh lanjut, hasil eveluasi tersaji pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil evaulasi semen cair Sapi Bali pasca penampungan.

|  |  |
| --- | --- |
| **Semen segar** | **Ulangan** |
|
| **1** | **2** | **3** | **4** | **Rataan** |
| Volume (ml) | 6 | 6 | 3 | 3 | 5 |
| Warna |  | Krem | Krem | Krem | Krem | Krem |
| Konsistensi | Sedang | Sedang | Sedang | Sedang | Sedang |
| Ph |  | 6,4 | 6.7 | 6.4 | 6.4 | 6,4 |
| Gerakan massa(%) | ++ | ++ | +++ | +++ | +++ |
| Konsentrasi (%) | 985 | 1.260 | 1.510 | 1.660 | 1353,75 |
| Motilitas (%) | 75 | 80 | 75 | 75 | 76,25 |
| Viabilitas (%) | 82,4 | 86.60 | 84.47 | 84.89 | 82,43 |
| Abnormalitas (%) | 3,51 | 2.70 | 4.34 | 3.27 | 3,51 |

 Keterangan : C = Warna Semen Krem

 S = Kekentalan Semen (Sedang)

 +++ = Gerak spermatozoa cepat berpindah, awan tebal dan gelap.

Volume

Hasil penelitian menunjukkan kualitas semen secara makroskopis cukup bagus dengan volume semen rata-rata setiap penampungan dari 4 ulangan berkisar antara 5-6 ml hasil volume semen yang didapatkan masih dalam kisaran normal karena hasil yang diperoleh sesuai dengan pendapat Garner dan Hafez (2000) volume semen sapi setiap satu kali ejakulasi berkisar antara 5-8 ml Volume rendah tidak merugikan tetapi apabila disertai konsentrasi yang rendah akan membatasi jumlah spermatozoa yang tersedia. Peningkatan frekuensi ejakulasi selain menurunkan jumlah volume semen juga akan menurunkan jumlah spermatozoa (Ball dan Peters, 2004).

 Pemeriksaan volume merupakan salah satu syarat yang diperlukan untuk mengetahui kuantitas semen segar setelah penampungan. Menurut Kartasudjana (2010) volume semen tergantung pada spesies ternak sapi. Menurut Kartasudjana (2010) ada faktor-faktor yang mempengaruhi volume semen juga yaitu bangsa, umur, sapi yang telah dewasa kelamin dan tubuh, ukuran badan, pakan yang berkualitas dan frekuensi penampungan.

1. Warna

Hasil pemeriksaan menunjukkan bahwa warna semen yang diperoleh selama penelitian dari sapi Bali adalah krem, hasil ini berada pada kisaran normal dan dapat dikategorikan semen yang berkualitas baik sehingga dapat diproses lebih lanjut menjadi semen beku. Gordon (2004) menyatakan bahwa warna, jumlah volume, konsentrasi, konsistensi, gerakan massa, pH dan motilitas spermatozoa semen segar dari seekor pejantan sangat bervariasi.

1. Gerakan massa

Sapi Bali menunjukan gerakan massa spermatozoa dengan kualitas normal. Hal ini dipengaruhi oleh banyak faktor antara lain kondisi masing-masing individu, seperti kualitas organ reproduksi, umur ternak, kondisi manajemen peternakan, jenis pakan yang diberikan dan bangsa sapi.

1. Konsistensi

Hasil evaluasi semen segar menunjukkan bahwa konsistensi semen memiliki presentase rata-rata sedang dan dikatakan memiliki kekentalan yang baik, Konsistensi atau derajat kekentalan semen sapi Bali adalah konsistensi sedang, semen sapi yang normal memiliki konsistensi dari sedang sampai kental. Konsistensi semen mempunyai korelasi aqdengan warna, misalnya semen yang berwarna krem biasanya konsistensinya pekat atau kental, sedangkan yang warnanya jernih atau terang biasanya konsistensinya encer (Feradis, 2010a).

1. pH

Rata-rata pH (derajat keasaman) semen sapi Bali selama 4 kali penampungan yang diperoleh selama penelitian adalah 6,4. Nilai ini termasuk normal karena kisaran pH semen sapi adalah 6,4-7,8 (Garner dan Hafez, 2000). Derajat keasaman memegang peran yang sangat penting karena mempengaruhi viabilitas spermatozoa, faktor-faktor yang mempengaruhi nilai pH adalah saat penempungan semen dibiarkan terpapar pada temperatur ruang tanpa diencerkan dan menyebabkan penimbunan asam laktat yang merupakan hasil akhir metabolisme. sangat baik, rata-rata setiap ulangan yaitu positif 3 , sesuai dengan pernyataan (Feradis, 2010b). Nilai ini termasuk kualitas yang sangat baik dengan gerakan massa adalah +++ (Campbel *et al*., 2003a).

 Spermatozoa dalam suatu kelompok mempunyai kecenderungan untuk bergerak bersama-sama ke satu arah yang menyerupai gelombang-gelombang yang tebal dan tipis, bergerak cepat atau lamban tergantung dari konsentrasi spermatozoa yang hidup didalamnya. Gerakan massa semen yang memiliki kualitas baik (++), bila terlihat gelombang-gelombang kecil, tipis, jarang, kurang jelas dan bergerak lamban (Feradis, 2010b).

1. Konsentrasi

Konsentrasi rata-rata semen segar sapi Bali yaitu 1353,75 dan menunjukan bahwa konsentrasi semen segar baik. Semen yang berkualitas baik adalah semen yang memiliki kandungan sperma hidup dan bergerak maju ke depan dalam jumlah yang banyak. Perbandingan spermatozoa hidup dan bergerak ke depan (motil progresif) dengan konsentrasi spermatozoa total dalam suatu contoh semen dikenal dengan istilah *motilitas spermatozoa*. Konsentrasi spermatozoa tampak pada warna semen tersebut, semakin pekat warna semen maka semakin tinggi pula konsentrasinya dan begitu pula sebaliknya (Feradis, 2010a). Dengan menggunakan metode menggolongkan sperma yang bergerak ditempat, bergerak mundur, bergerak melingkar dan sperma yang tidak bergerak sama sekali. Spermatozoa yang mati dan berada dalam bidang hitung kamar Neubauer dapat dihitung..

1. Motilitas

Nilai motilitas spermatozoa sapi Bali tersebut termasuk normal yaitu 76.25, karena menurut Bearden *et al*. (2004) nilai motilitas semen sapi antara 70 sampai 80%. Banyak faktor-faktor yang mempengaruhi nilai motilitas spermatozoa seperti perbedaan yaitu umur, kematangan spermatozoa dan plasma semen (Garner dan Hafez, 2000).

1. Viabilitas

Sapi Bali menunjukkan nilai viabilitas 82.43 dan berada pada kisaran terbaik karena Viabilitas spermatozoa untuk pembutan semen yang diencerkan atau semen beku minimal memiliki 60 % sampai 75% spermatozoa hidup (Garner and Hafez, 2000). Faktor presentase hidup spermatozoa ditentukan oleh membran plasma yang utuh. Membran plasma spermatozoa berfungsi untuk melindungi organel spermatozoa diukur menggunakan pewarna eosin. Spermatozoa hidup yang memiliki membran sel yang utuh tidak akan menyerap eosin sehingga warnanya tetap dan tidak berubah sedangkan spermatozoa mati akan menyerap zat warna eosin karena permeabilitas membrannya meningkat sehingga warnanya berubah menjadi merah ( MataHine T *et all.,*  2014 ).

1. Abnormalitas

Nilai Abnormalitas spermatozoa pada saat penampungan dan hasil evluasi memiliki rataan 3,51 dan berada dalam kisaran normal, ( MataHine T *et all.,*  2014 ) ada beberapa faktor-faktor yang mempengaruhi nilai abnormalitas spermatozoa yaitu genetik, umur, cahaya atau temperatur, manejemen pemeliharaan frekuensi penampungan serta lingkungan yang sangat berpengaruh pada abnormalnya spermatozoa ( MataHine T *et all.,*  2014 ).

1. Pengaruh pengencer Air buah Lontar terhadap kualitas semen cair sapi Bali.
2. Motilitas

 Rataan Motilitas semen segar sapi Bali setelah diencerkan pada penelitian yaitu P0 (49.15 %), P1 (51.3 %), P2 (55.95 %) dan P3 (55 %). Hasil analisis data motilitas disajikaan pada Tabel 6.

 Tabel 6. Rataan motilitas semen cair sapi Bali.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  |  |  |
| Perlakuan | `Ulangan | Rata-rata ± std.Dev |
| 1 | 2 | 3 | 4 |
| P 0 | 51.2 | 53.8 | 45.2 | 46.4 | 49.15± 5.74a |
| P1 | 51 | 54 | 50 | 50.2 | 51.3 ± 6.23b |
| P2 | 56 | 56 | 57.2 | 57.6 | 56.7 ± 4.43d |
| P3 | 57.2 | 57.6 | 52 | 54 | 55.2 ± 5.00c |

Keterangan : a, b, c, d Nilai rata-rata dengan superskip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukan perbedaan yang amat nyata (P< 0,05)

 P0 : semen + sitrat kuning telur sebagai pengontrol

P1 : semen + sitrat kuning telur 90% + Air buah lontar 10%

P2 : semen + sitrat kuning telur 80% + Air buah lontar 20%

P3 : semen + sitrat kuning telur 70% + Air buah lontar 30%

 Hasil analisis variansi menunjukkan bahwa perlakuan P2 dengan penambahan air buah lontar 20% dan P3 dengan penambahan air buah lontar 30% berbeda nyata (P<0,05) mampu mempertahankan rata-rata presentase motilitas di atas 40% yaitu 56.7 d± 4,43 dan 55.2 c± 5,00 lebih baik dari pada perlakuan P0 49.15± 5.74 dan P1 51.3 ± 6.23.

Pada perlakuan P0 tanpa buah lontar, P1 Air buah lontar 10% memiliki presentase motilitas terendah hal ini disebabkan karena spermatozoa pada pengencer P0 sitrat-KT 100% tanpa penambahan air buah lontar hanya mendapat sumbangan energi hanya dari kuning telur saja. Meskipun fosfolipid, kolesterol, dan *low density lipoprotein* yang terkandung didalam kuning telur berperan melindungi spermatozoa terhadap *cold shock* selama proses pendinginan (Kulaksiz *et al.,*2010).

Sitrat kuning telur perlu dikombinasikan dengan air buah lontar untuk menghasilkan pengencer yang komplit sehingga dapat memenuhi sebagian besar kebutuhan spermatozoa ( MataHine T *et al.,*  2014 ). Penurunan viabilitas spermatozoa selama penyimpanan disebabkan oleh meningkatnya jumlah spermatozoa rusak dan mati akibat kekurangan energi (Solihati *et al*,. 2008).

 Sama seperti P0 pada pengencer P1 walaupun spermatozoa mendapatkan sumbangan 10 % karbohidrat berupa glukosa dari Air buah lontar namun jumlah tersebut belum cukup memenuhi sebagian besar kebutuhan spermatozoa yang masih kekurangan sukrosa dan frutkosa (Yi *et al.*, 2008). Motilitas spermatozoa pada pengencer P2 dan P3 berbeda nyata, dimana P2 (56.7 d± 4,43) lebih tinggi 1.5 % dari pada P3 (55.2 c± 5,00).

Pengencer P2 dinilai lebih baik karena penambahan air buah lontar 20 % terjadi keseimbangan yang baik dalam mengatasi kejut dingin (*chold shock*) serta ketersediaan sumber energi yang berasal dari air buah lontar berupa karbohidrat merupakan salah satu prasyarat untuk pengencer semen yang baik. Karbohidrat memiliki beberapa fungsi, yaitu sumber energi bagi sperma selama inkubasi, memelihara tekanan osmotik cairan dan dapat bertindak sebagai krioprotektan serta kebutuhan energi spermatozoa berupa *Adenosine Triphosphate*(ATP) dalam mempertahankan hidup secara alami telah terpenuhi didalam plasma semen dan kandungan fruktosa yang ada dalam air buah lontar.

 Selain memiliki kandungan karbohidrat yang lebih tinggi yang dapat dijadikan sebagai substrat energi bagi motilitas spermatozoa, pengencer P2 memiliki kapasitas *buffering* yang juga cukup tinggi, walaupun belum dilakukan identifikasi tentang unsur apa yang terkandung di dalam air buah lontar yang berperan dalam mempertahankan pH.

 Pada perlakuan P3 peneliti menduga bahwa hal ini disebabkan karena sukrosa dari air buah lontar membutuhkan waktu yang lebih lama dalam menghasilkan energi dan akan menyebabkan penimbunan asam laktat yang lebih banyak sehingga membuat suasana tidak nyaman untuk spermatozoa akibat perombakan energi yang berlebihan dan menyebabkan spermatozoa mati.

 Rizal *et al*. (2004) menyatakan bahwa penurunan motilitas spermatozoa selama penyimpanan, baik persentase motilitas progresif maupun keutuhan membran plasma diduga akibat banyaknya spermatozoa yang mati dan menjadi toksik terhadap spermatozoa lain yang masih hidup, peniliti menduga hal tersebut juga terjadi pada P3 sehingga secara umum kualitasnya menjadi menurun.

 Hasil uji DMRT menunjukan bahwa perlakuan P2 dengan penambahan air buah lontar 20% mempunyai nilai presentase motilitas sebesar (56.7 d± 4,43) dan merupakan perlakuan terbaik dibandingkan perlakuan yang lain.

1. Viabilitas Rataan Viabilitas semen segar sapi Bali setelah diencerkan yaitu P0(55.95%), P1 (57.6%), P2 (64.6 %) dan P3 (60.65%). Hasil analisis Viabilitas disajikan pada Tabel 7.

Tabel 7. Rataan viabilitas semen cair sapi Bali

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  |  |  |
| Perlakuan | Ulangan | Rata-rata ± std.Dev |
| 1 | 2 | 3 | 4 |
| P 0 | 59.2 | 59.2 | 52 | 53.4 | 55.95 ± 4.81a |
| P1 | 56.2 | 59.6 | 57 | 57.6 | 57.6 ± 6.49b |
| P2 | 62.6 | 66.8 | 64.2 | 64.8 | 64.6± 5.73d |
| P3 | 57.2 | 62.2 | 60.2 | 63 | 60.65 ± 5.25c |

Keterangan : a, b, c, d Nilai rata-rata dengan superskip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukan perbedaan nyata (P< 0,05)

 P0 : semen + sitrat kuning telur sebagai pengontrol

P1 : semen + sitrat kuning telur 90% + Air buah lontar 10%

P2 : semen + sitrat kuning telur 80% + Air buah lontar 20%

P3 : semen + sitrat kuning telur 70% + Air buah lontar 30%

 Hasil analsi variansi menunjukan bahwa perlakuan P0 tanpa penambahan air buah lontar dan P1 dengan penambahan 10% air buah lontar berbeda nyata (p<0,05) dengan perlakuan P2 64.6d ± 5,73) dan P3 (60.65c ± 5,25).

 Peneliti menduga perlakuan P0 sebagai kontrol dan P1 yang telah ditambahkan 10% air buah lontar belum mampu mempertahankan nilai pH serta zat-zat nutrisi terutama karbohidrat, penurunan viabilitas terjadi pada hari kedua, hari ketiga dan hari keempat selama 4 hari penyimpanan serta kurangnya energi menyebabkan banyak spermatozoa mati.

 Pareira *et al.* (2010) menyatakan bahwa viabilitas akan menurun akibat suhu dingin selama penyimpanan, ketersediaan energi dalam pengencer semakin berkurang, dan menurunnya pH karena terjadi peningkatan asam laktat hasil metabolisme spermatozoa, adanya kerusakan membran plasma dan akrosom.

Pada perlakuan P2 Penambahan fruktosa dari buah lontar juga dapat mempertahankan daya hidup spermatozoa, sebagai krioprotektan ekstraseluler fruktosa akan melindungi membran plasma sel sperma dari kerusakan secara mekanik yang mungkin terjadi saat proses kriopreservasi semen (Rizal, 2008). Pada perlakuan P3 ada perbedaan nyata (P<0,05), karena dalam menghasilkan energi sukrosa akan menghasilkan asam laktat yang lebih banyak sehingga membuat suasana tidak nyaman untuk spermatozoa bahkan bersifat toksik dan menyebabkan kematian spermatozoa.

Hasil uji lanjut DMRT menyatakan bahwa P2 dapat mempertahan nilai viabilitas diatas 60% sesuai dengan standar yang telah ditetapkan.

Pada penelitian ini, spermatozoa mati dan hidup dapat dibedakan dengan menggunakan pewarna eosin. Perbedaan spermatozoa mati dan spermatozoa hidup dapat dilihat pada gambar dibawah ini (Gambar 1).

 

 Gambar 1. Perbeadaan spermatozoa hidup dan mati

Ket : A = Spermatozoa hidup

 B = Spermatozoa mati

1. Abnormalitas

 Rataan Abnormalitas semen segar sapi Bali setelah diencerkan P0 (4.78 %), P1 (4.86%), P2 (4.83%) dan P3 (4.84%). Hasil analisis Abnormiltas disajikan pada Tabel 8.

Tabel 8. Rataan abnormalitas semen sapi Bali

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  |  |  |  |  |  |
| Perlakuan |  | Ulangan |  |  | Rata-rata ± std.Dev |
| 1 | 2 | 3 | 4 |
| P0 | 4.78 | 5.932 | 4.772 | 3.638 | 4.88 ± 0.59c |
| P1 | 4.762 | 5.956 | 4.966 | 3.748 | 4.86 ± 1.09a |
| P2 | 4.702 | 6.054 | 4.898 | 3.658 | 4.83 ± 1.19a.b |
| P3 | 4.716 | 5.894 | 4.948 | 3.796 | 4.84 ± 1.20a |

Keterangan : a, b, c, d Nilai rata-rata dengan superskip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukan ada perbedaan nyata (P<0,05).

 P0 : semen + sitrat kuning telur sebagai pengontrol

P1 : semen + sitrat kuning telur 90% + Air buah lontar 10%

P2 : sperma + sitrat kuning telur 80% + Air buah lontar 20%

P3 : sperma + sitrat kuning telur 70% + Air buah lontar 30%

 Hasil Anilisis variansi memperlihatkan bahwa setiap perlakuan signifikan (P<0,05) atau ada perbedaan yang nyata, meskipun setiap perlakuan dapat mempertahankan presentase abnormalitas dibawah 20% selama penyimpanan 4 hari, dan sesuai dengan standar inseminasi buatan (MataHine, 1991).

 Apabila dilihat dari keseluruhan perlakuan P0, P1, P2, dan P3 bahwa persentase abnormalitas dalam penelitian masih tergolong baik di bawah 20% hingga jam ke 24. Diperkuat kembali oleh (Hafez, 2000 dalam Alawiyah 2006) selama abnormalitas spermatozoa belum mencapai 20% dan tidak lebih dari itu, maka semen tersebut masih layak untuk diproses selanjutnya.

 Abnormalitas akan dianggap serius apabila abnormal primer telah mencapai 18-20%, abnormalitas pada setiap perlakuan sangat sedikit hal ini disebebkan karena ternak yang digunakan merupakan sapi yang sudah sangat terlatih untuk penampungan selain itu juga manejemen pemeliharaan dan *handling*  terhadap spermatozoa sangat baik.

 Pada setiap perlakuan terdapat spermatozoa abnormal sekunder yang terdapat pada ekor hal ini disebebkan oleh preparasi sehingga meningkatkan tingginya presentase. Hal lain yang dapat menyebabkan abnormalitas pada ekor adalah ejakulasi yang tidak sempurna dan shock terhadap suhu ( Barth dan Oko, 1989).

Pembuatan preparat ulas yang kurang tepat juga menyebabkan kerusakan pada spermatozoa seperti ekor dan kepala putus. Morfologi abnormalitas pada spermatozoa berhubungan dengan fertilitas. Dengan demikian bahwa pengaruh tingginya abnormalitas berasal dari prossesing penyimpanan dan kondisi fisiologis dari pengencer tersebut, selain itu juga dari faktor pejantan saat penampungan yang berhubungan dengan fertilitas ternak itu sendiri (Susilawati, 2013).

 Hasil uji lanjut (DMRT) menyatakan bahwa setiap perlakuan dapat memepertahan nilai abnormalitas sehingga tidak melebihi 20% standar abnormalitas, namun P2 dinilai lebih baik karena presentase abnormalitas yang sangat sedikit, dari hasil pengamatan dapat disimpulkana bahwa ternak yang digunakan merupakan sapi yang terlatih untuk penampungan dan tidak memiliki kelaina genetik .

 Pada penelitian ini terdapat contoh gambar abnormalitas spermatozoa, berikut ini gambar beberapa jenis spermatozoa yang abnormal (Gambar 2).



 Gambar 2. Perbedaan spermatozoa yang abnormal

Ket : A = Spermatozoa yang normal

 B = Spermatozoa yang abnormal (ekor putus)

 C = Spermatozoa yang abnormal (kepala putus)

 D = Spermatozoa yang abnormal (ekor melengkung)

 E = Spermatozoa yang abnormal (ekor pendek)

**KESIMPULAN DAN SARAN**

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa bahan pengencer terbaik adalah penambahan air buah lontar 20% untuk mempertahankan nilai presentase motilitas, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa sapi Bali.

SARAN

 Untuk mempertahankan nilai presentase motilitas, viabilitas dan abnormalitas disarankan untuk menggunakan air buah lontar sebanyak 20 – 30 %

**DAFTAR PUSTAKA**

Amirat L, Tainturier D, Jeanneau L, Thorin C, Gerard O, Courtens JL, Anton M, 2004. *Bull semen in vitro fertility after cryopreservation using egg yolk LDL: a comparisonwith optidyl, a commercial egg yolk extender*. Theriogenology 61: 895–907.

Ball, P.J.H. and A.R. Peters., 2004. *Reproduction in Cattle.* 3rd ed. Blackwell Science, Inc. 2-3: 6-8.

Dahlan, D.N.A. 2011. *Evaluasi Potensi Limbah Sabut Siwalan Terfermentasi Em-4 Sebagai Pakan Sapi Pedaging Secara In-Vitro*. Skripsi. Jurusan Biologi. Fakultas Sains Dan Teknologi. Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim. Malang.

Feradis. 2010. *Bioteknologi Reproduksi pada Ternak.* Alfabetah. Bandung.

Garner, D. L. dan E.S.E. Hafez. 2000. Spermatozoa *and seminal plasma. In.Reproduction in Farm Animals.* 7th Ed . Lippincott Williams & Wilkins. USA,96-109.

Herdis *et al*. 1998. *Inseminasi Buatan Teknologi Tepat Guna solusi dalam meningkatkan populasi ternak Akibat Krisis Ekonomi*. Deptan.

Hafez ESE, 2000a, *Reproduction in Farm Animals* 7th Edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.

Hafez, E.S.E. 2000b, Artificial Insemination by Bellin.,M.E., Hafez.B., Verner.,D.D.,Love.,CC *et.,al* *in Reproduction in Farm Animals*. 7th ed. Philadelphia, USA.

Kulaksiz, R., C. Cebi, E. Akcay and A. Daskin. 2010. *The protective effect of egg yolk from different avian species during the cryopreservation of Karayaka ram semen*. J. Small Rumin. Res. 88: 12-15.

MataHine T. 1991a. *Pengaruh penambahan beberapa pengencer terhadap motilitas dan daya tahan hidup spermatozoa sapi bali*. Kupang. Fakultas Peternakan Universitas Nusa Cendana.

Matahine T, Burhanuddin dan A Marawali. 2014b. *Efektifitas Air Buah Lontar dalam Mempertahankan Motilitas, viabilitasdan Daya Tahan Hidup Spermatozoa Sapi Bali.* Jurnal Veteriner 15, 263-273.

Rizal M. 2008. *Fertilitas Spermatozoa Ejakulat Epididimis Domba Garut Hasil Kriopreservasi Menggunakan Modifikasi Pengencer Tris Dengan Berbagai Krioprotektan dan Antioksidan.* [Disertasi] Program Studi Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.

Solihati, N., S.D. Rasad, R. Setiawan dan T. Kustini. 2015. *Pengaruh Penambahan Glutation dan Alfa Tokoferol terhadap Daya Hidup Sperma Domba Lokal Umur Pubertas.* Prosiding SeminarNasional Peternakan Berkelanjutan ke-7. Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran Bandung. 72-77.

Yuwanta, T. 2010. *Telur dan kualitas Telur*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.