



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

**PENGARUH KECEPATAN PENURUNAN SUHU SELAMA
PEMBEKUAN TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA BEKU
CAUDA EPIDIDMYS SAPI PETRNAKAN SENTIMENTAL**

SKRIPSI



**BARKAT SAPUTRA
0910612299**

**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2015**

**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG**

Kami dengan ini menyatakan bahwa Skripsi yang ditulis oleh :

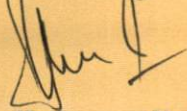
Barkat Saputra

**PENGARUH KECEPATAN PENURUNAN SUHU SELAMA
PEMBEKUAN TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA BEKU CAUDA
EPIDIDYMISS SAPI PERANAKAN SIMMENTAL**

Diterima sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Peternakan

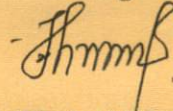
Menyetujui :

Pembimbing I


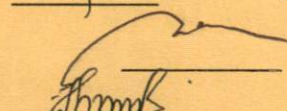
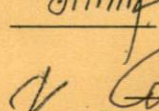
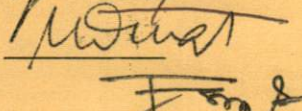
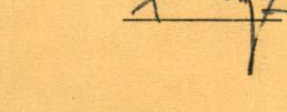
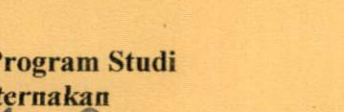


Dr. Ir. H. Jaswandi, MS
NIP. 196310041988101001

Pembimbing II



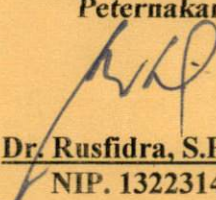
Dr. Ir. Hj. Tinda Afriani, MP
NIP. 196204261987032001

Tim Penguji	Nama	TandaTangan
Ketua	Dr. Ir. H. Jaswandi, MS	
Sekretaris	Rusdimansyah, S.Pt, Msi	
Anggota	Dr. Ir. Hj. Tinda Afriani, MP	
Anggota	Prof. Dr. Ir. Zaituni Udin, MSc	
Anggota	Prof. Dr. Ir. Ferdinal Rahim	
Anggota	Ferry Lismanto Syaipul, S.Pt, MP	

Mengetahui :


**Dekan Fakultas Peternakan
Universitas Andalas**

Dr. Ir. H. Jafrinur, MSP
NIP. 196002151986031005

**Ketua Program Studi
Peternakan**

Dr. Rusfidra, S.Pt., MP
NIP. 132231457

Tanggal Lulus : Jum'at, 23 Januari 2015

**PENGARUH KECEPATAN PENURUNAN SUHU SELAMA
PEMBEKUAN TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA BEKU CAUDA
EPIDIDYMISS SAPI PERANAKAN SIMMENTAL**

Barkat Saputra, dibawah bimbingan
Dr.Ir. H. Jaswandi, MS dan Dr. Ir. Hj. Tinda Afriani, MP
Program Studi Peternakan Fakultas Peternakan
Universitas Andalas Padang, 2015

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kecepatan penurunan suhu selama pembekuan terhadap kualitas spermatozoa beku *cauda epididymis* sapi Peranakan Simmental. Materi penelitian ini adalah empat *cauda epididymis* sapi Peranakan Simmental yang diperoleh dari Rumah Potong Hewan (RPH) Piai Padang. Penelitian ini dilakukan secara eksperimental menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan empat perlakuan yaitu P0 sebagai kontrol dengan penurunan suhu 22,2⁰C/menit, P1 perlakuan pembekuan dengan penurunan suhu 15⁰C/menit dari 5⁰C sampai -120⁰C, P2 perlakuan pembekuan dengan penurunan suhu 20⁰C/menit dari 5⁰C sampai -120⁰C, P3 perlakuan pembekuan dengan penurunan suhu 25⁰C/menit dari 5⁰C sampai -120⁰C, dengan ulangan sebanyak empat kali. Data yang diperoleh akan dianalisis Ragam Acak Kelompok serta dilanjutkan dengan uji Duncan's Multiple Range Test (DMRT). Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan penurunan suhu 15⁰C/menit dari 5⁰C sampai suhu -120⁰ merupakan perlakuan terbaik dengan rata-rata persentase motilitas spermatozoa 40%, persentase hidup spermatozoa 47,68% dan persentase abnormalitas spermatozoa 17,16% secara berturut-turut.

Kata kunci : *cauda epididymis*, Peranakan Simmental, pembekuan spermatozoa, kualitas semen.

KATA PENGANTAR



Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi ini dengan judul **“Pengaruh Kecepatan Penurunan Suhu Selama Pembekuan Terhadap Kualitas Spermatozoa Beku Cauda Epididymis Sapi Peranakan Simmental”**. Shalawat beserta salam senantiasa tercurahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW, semoga kita senantiasa mendapat safa’atnya diakhir zaman nanti, amin.

Terimakasih dan penghargaan yang tinggi penulis tujukan kepada Ayahanda Kaharuddin Rj. Alam dan Ibunda Rosliana serta semua keluarga besar yang selalu mendo’akan, memotivasi serta mendukung penulis untuk menggapai cita-cita. Seterusnya penulis mengucapkan terimakasih sebanyak-banyaknya kepada Bapak Dr. Ir. H. Jaswandi, MS selaku pembimbing I dan Ibu Dr. Ir. Hj. Tinda Afriani, MP selaku pembimbing II yang telah membimbing dan meluangkan waktu dalam menyusun dan menyelesaikan Skripsi. Serta Bapak M. Iksan Rias S.E, Msi selaku Pembimbing Akademik yang telah memberikan motivasi dan arahan kepada penulis selama menempuh study di Fakultas Peternakan, semoga Allah SWT membalas dengan pahala yang setimpal, amin.

Terimakasih juga penulis ucapkan kepada dosen penguji ibu Prof. Dr. Ir Zaituni udin, MSc Bapak Prof. Dr. Ir. Ferdinal Rahim dan Bapak Ferry Listmanto Syaipul, S.Pt, MP serta Bapak Rusdimansyah S.Pt, MSi selaku sekretaris yang telah memberikatt masukan dan saran kepada penulis demi kesempurnaan Skripsi

ini. Selanjutnya ucapan terimakasih ditujukan kepada rekan-rekan di Laboratorium Reproduksi Ternak (Ayu Fadhilah, Novita Gusmalia, Ibu Len, Uni Cecen, Kak Zola, Woki, Heru) yang telah banyak membantu penulis sewaktu melakukan penelitian sehingga penelitian dapat terselesaikan dengan baik.

Terimakasih juga kepada Keluarga Besar Sanggar Ungu UKS Faterna Unand, bisa bergabung dan mendapat banyak pengalaman semoga semakin jaya dan menjadi insan intelektual yang berjiwa seni dan kreatif (*Because We Are Family*). Termakasih telah menjadi partner MC yang baik dan jangan pernah berhenti belajar dan belajar lagi *mbak* Muslimatul Adabiah M. Serta teman-teman di organisasi HMI Komisariat Peternakan yang siap membesarkan dan siap dibesarkan ” Yakin Usaha Sampai”. Serta temen-temen di organisasi HIPMI PT UNAND ”*let's to be enterpreneurship*”.

Penulis menyadari skripsi ini belumlah sempurna, masih banyak kekurangan dan kekeliruannya, karena kesempurnaan hanyalah milik Allah SWT semata. Untuk itu penulis sangat mengharapkan saran dan kritikan yang bersifat membangun demi kesempurnaan skripsi ini dan semoga saja skripsi ini dapat menambah khasanah ilmiah dan berguna bagi kita semua.

Padang, Februari 2015

Barkat Saputra

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
KATA PENGANTAR	ii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR LAMPIRAN.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	4
E. Hipotesis Penelitian	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Sapi Simmental.....	5
B. Epididymis	5
C. Kualitas Semen.....	7
D. Pengenceran Semen	8
E. Waktu Equilibrasi.....	10
F. Pembekuan Semen.....	11
G. Thawing	12
III. MATERI DAN METODE PENELITIAN.....	13
A. Materi Penelitian	13

B	Metode Penelitian.....	13
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	21
A.	Kualitas Spermatozoa Segar	21
B.	Pengaruh Perlakuan Terhadap Motilitas Spermatozoa.....	25
C.	Pengaruh Perlakuan Terhadap Persentase Hidup Spermatozoa	27
D.	Pengaruh Perlakuan Terhadap Abnormalitas Spermatozoa....	29
V.	KESIMPULAN DAN SARAN	32
A.	Kesimpulan	32
B.	Saran	32
	DAFTAR PUSTAKA.....	33

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Analisis keragaman Rancangan Acak Kelompok.....	20
2. Hasil evaluasi spermatozoa segar	21
3. Persentase motilitas spermatozoa untuk masing-masing setelah perlakuan pembekuan.....	26
4. Persentase hidup spermatozoa untuk masing-masing perlakuan.....	27
5. Persentase abnormalitas spermatozoa untuk masing-masing perlakuan	29

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	. Halaman
1. Analisis Statistik Pengaruh Perlakuan Terhadap Motilitas Spermatozoa	37
2. Analisis Statistik Pengaruh Perlakuan Terhadap Persentase hidup Spermatozoa	40
3. Analisis Statistik Pengaruh Perlakuan Terhadap Abnormalitas Spermatozoa	43

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Anatomi Testi dan <i>Epididymis</i>	6
2. Rancangan Penelitian	14

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Usaha peningkatan populasi sapi dan perbaikan mutu genetik yang dapat dilakukan adalah dengan pelaksanaan Inseminasi Buatan. Menurut Solihati (2008) pemanfaatan bioteknologi reproduksi peternakan melalui teknologi Inseminasi Buatan merupakan upaya penerapan teknologi tepat guna yang sangat memungkinkan untuk meningkatkan jumlah dan mutu genetik ternak serta pembentukan bibit ternak yang berkualitas.

Berhasilnya suatu program kegiatan Inseminasi Buatan pada ternak tidak hanya tergantung pada kualitas dan kuantitas semen yang diejakulasikan seekor pejantan, tetapi juga tergantung kepada kesanggupan untuk mempertahankan kualitas dan daya hidup spermatozoa lebih lama setelah ejakulasi serta memperbanyak volume semen tersebut sehingga lebih banyak akseptor yang akan diinseminasi. Semen yang digunakan dalam Inseminasi Buatan bisa dalam bentuk semen cair dan semen beku. Inseminasi Buatan di pengaruhi oleh beberapa faktor seperti kualitas spermatozoa yang digunakan, pengencer, serta proses saat pembekuan semen.

Pemanfaatan spermatozoa *cauda epididymis* adalah sebagai penggunaan pejantan unggul berkemungkinan dapat terjadi mati secara mendadak. Menurut Rizal (2005) upaya pengolahan spermatozoa yang dikoleksi dari *cauda epididymis* sapi dalam bentuk semen cair atau semen beku untuk keperluan aplikasi berbagai teknologi reproduksi, menjadi metode alternatif yang dapat diterapkan pada ternak atau hewan yang memiliki kualitas genetik unggul tetapi tidak dapat ditampung semennya. Selanjutnya *cauda epididymis* sebagai penyelamatan genetik dalam

rangka pelestarian plasma nutfah dari hewan yang sudah mati, sehingga sapi penjantan unggul yang dipotong dapat dilestarikan mutu genetiknya.

Spermatozoa yang berasal dari bagian *cauda epididymis* telah memiliki kemampuan membuahi oosit yang sama baiknya dengan spermatozoa hasil ejakulasi (Hafez, 2000). Hal ini karena spermatozoa yang terdapat dibagian *cauda epididymis* telah melewati proses pematangan dibagian *caput* dan *corpus epididymis*, serta sudah memiliki kemampuan bergerak (motilitas) yang sama dengan spermatozoa hasil ejakulasi (Axner *et al.*, 1999). Spermatozoa dari *cauda epididymis* tidak mempunyai lingkup plasma semen. Sehingga diperkirakan terdapat pengaruh perbedaan fisik dan kimia yang dapat mempengaruhi proses pembekuan dari spermatozoa.

Tahap seeding adalah tahap kritis pada proses pembekuan semen sehingga sangat menentukan kualitas semen beku yang dihasilkan. Hal ini sejalan dengan yang dikemukakan Partodihardjo (2009) proses pembekuan merupakan pembekuan semen dalam suhu -196°C dengan tujuan untuk mempertahankan kualitas dan kuantitas semen yang akan di pakai dalam Inseminasi Buatan. Beberapa penelitian terdahulu telah dilakukan untuk mengetahui pengaruh kecepatan penurunan suhu selama tahap seeding. Proses pembekuan dilakukan berbeda-beda pada suhu $15^{\circ}\text{C}/\text{menit}$, $20^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ dan $25^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ sampai mencapai suhu -120°C . Trelford (1969) melakukan proses pembekuan dengan kecepatan penurunan suhu antara 16°C sampai 25°C . Sedangkan laporan Park dan Pursel (1993) bahwa motilitas dan keutuhan akrosom spermatozoa yang dibekukan dengan kecepatan penurunan suhu $16^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ pada media sitrat-kuning telur nyata lebih tinggi sebesar 50,17%. Kumar, *et al.*, (2009) memperoleh pembekuan spermatozoa domba dengan penurunan suhu terbaik

yaitu 0,15 °C/menit dari 25°C sampai mencapai 5°C yang diprogram dengan alat *cell freezer*.

Laporan Herdiawan (2004) menunjukkan bahwa laju penurunan suhu pembekuan yang optimum menggunakan bahan pengencer tris dan laktosa-kuning telur pada suhu terendah yaitu pada suhu 13⁰C/ menit, memberikan angka motilitas spermatozoa paling tinggi dengan rata-rata 52,53%, bila dibandingkan bahan pengencer sitrat-kuning telur dengan laju penurunan suhu pembekuan tertinggi 24⁰C/menit dengan rata-rata 44,83%. Motilitas dan keutuhan akrosom spermatozoa yang dibekukan dengan menggunakan tris kuning telur pada metode lambat (7,25⁰C/menit) memberikan hasil yang sama dengan laju penurunan suhu pada metode sedang (13,3⁰C/menit) yaitu sekitar 56,6%, sehingga ditemukan laju penurunan suhu optimum sekitar 13⁰C/menit (Senger *et al.*, 1983, dalam Herdiawan, 2004).

Pada umumnya masalah pembekuan spermatozoa berkisar pada dua fenomena yaitu pengaruh *cold shock* terhadap sel yang dibekukan dan perubahan-perubahan intraseluler akibat perubahan suhu saat pembekuan. Pengaruh tersebut sangat ditentukan oleh kecepatan penurunan suhu selama tahap seeding dari proses pembekuan spermatozoa. Berdasarkan hal tersebut maka dilakukan penelitian dengan judul **“Pengaruh Kecepatan Penurunan Suhu Selama Pembekuan Terhadap Kualitas Spermatozoa Beku *Cauda Epididymis* Sapi Peranakan Simmental”**.

B. Perumusan Masalah

Dari penjelasan diatas maka dapat dirumuskan permasalahan yaitu :
Bagaimana pengaruh kecepatan penurunan suhu selama pembekuan terhadap kualitas spermatozoa beku *cauda epididymis* sapi Peranakan Simmental.

C. Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui pengaruh kecepatan penurunan suhu pembekuan terhadap kualitas spermatozoa beku *cauda epididymis* sapi Peranakan Simmental.

D. Manfaat Penelitian

Diharapkan hasil penelitian ini dapat bermanfaat sebagai bahan informasi bagi peneliti, dan pihak-pihak yang terkait mengenai pengaruh penurunan suhu pembekuan terhadap kualitas spermatozoa beku *cauda epididymis* sapi Peranakan Simmental.

E. Hipotesis Penelitian

Kecepatan penurunan suhu selama proses pembekuan mempengaruhi kualitas (motilitas, persentasi hidup dan abnormalitas) spermatozoa beku *cauda epididymis* sapi Peranakan Simmental.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Sapi Simmental

Sapi Simmental merupakan sapi dari keturunan *Bos Taurus* yang berasal dari daerah Simme Switzerland (Sugeng, 2006). Selanjutnya Sugeng mengemukakan sapi Simmental memiliki ciri-ciri yaitu ukuran tubuh besar, pertumbuhan otot bagus, penimbunan lemak di bawah, warna bulu pada umumnya krem agak coklat atau sedikit merah, muka, keempat kaki dari lutut dan ujung ekor berwarna putih. Ukuran tanduk kecil bobot sapi betina mencapai 800 kg dan jantan 1150 kg. Sudarmono dan Sugeng (2008) menyatakan bahwa sapi Simmental termasuk tipe potong, perah dan tipe kerja sedangkan sapi Peranakan Simmental merupakan bangsa sapi persilangan dengan sapi PO yang cocok untuk peternak di Indonesia.

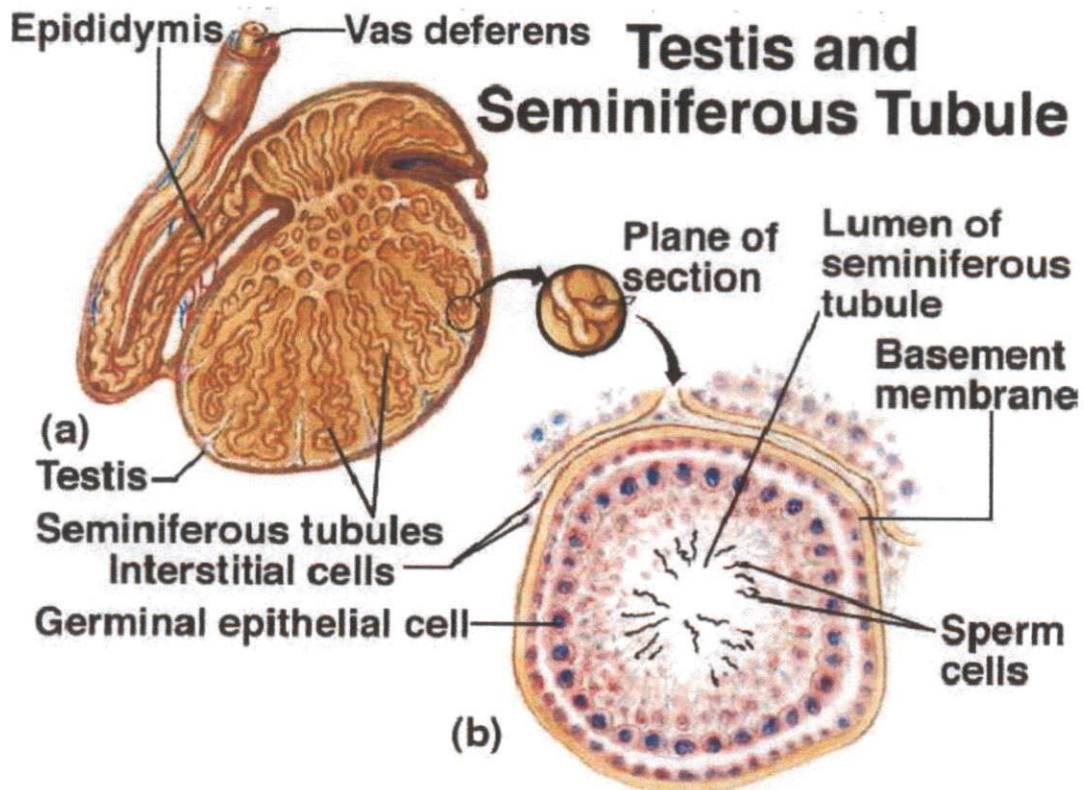
Hadi dan Ilham (2002) menjelaskan bahwa sapi Peranakan Simmental merupakan bangsa sapi hasil persilangan dengan pertambahan bobot badan berkisar antara 0.6 sampai 1.5 kg/hari. Ditambahkan oleh Susilorini (2008) bahwa sapi Peranakan Simmental memiliki sifat jinak, tenang dan mudah dikendalikan.

B. Epididymis

Epididymis berasal dari bahasa latin *epi* = di atas, *didymis* = testis. Bentuknya bulat panjang, besar pada pangkal yang disebut kepala *epididymis*, bagian tengah sering disebut badan *epididymis*, sedangkan ujung bawah yang berupa jendolan dari testis disebut ekor *epididymis* (Partodiharjdo,2009).

Selanjutnya Partodiharjdo (2009) menjelaskan *cauda epididymis* merupakan sumber alternatif spermatozoa yang belum banyak mendapatkan perhatian. Spermatozoa yang berasal dari *cauda epididymis* telah mengalami pematangan pada bagian *caput epididymis* dan *corpus epididymis*, sehingga

diharapkan memiliki kualitas yang sama dengan spermatozoa yang dikoleksi dari semen hasil ejakulasi. Apabila terjadi kematian ternak unggul secara mendadak dan jauh dari tempat pengolahan semen, maka penyimpanan *cauda epididymis* menjadi solusi dalam upaya pelestarian sumber genetik unggul yang dimiliki sapi jantan tersebut (Partodiharjdo, 2009).



Gambar 1. Anatomi testis dan *epididymis*
a) Testis dan *epididymis*, b) tubulus seminiferus (Anonymous, 2014)

Epididymis merupakan daerah tempat pematangan dan penyimpanan spermatozoa sampai pada saat spermatozoa dikeluarkan dengan ejakulasi (Frandsen, 1992). Spermatozoa akan matang selama 2 sampai 4 minggu sebelum disimpan di vesikula seminalis, cairan *epididymis* dari sapi jantan dapat terkumpul sebanyak 4 ml, cairan ini berwarna kuning keputih-putihan, kental dan mengandung spermatozoa (Rasul, 2001).

Epididymis berfungsi sebagai transpor, absorpsi cairan, sekresi cairan, pendewasaan spermatozoa dan timbunan (Suardi, 2002). Selanjutnya Suardi mengemukakan dalam *ductus epididymis* cairan testis yang menjadi medium masa spermatozoa, airnya diserap oleh epitel dinding *epididymis*. Spermatozoa sewaktu meninggalkan tubuli seminiferi mempunyai butiran sitoplasma yang membalut pada bagian leher. Ini merupakan suatu tanda bahwa spermatozoa tersebut masih muda. Dalam perjalanan melalui *ductus epididymis*, butiran sitoplasma bermigrasi ke bagian ekor bawah sampai akhirnya terlepas sama sekali dari ekor. Pemasakan ini disebabkan oleh adanya sekresi dari sel-sel epitel pada *ductus epididymis*. Pada sapi jantan, proses pendewasaan terjadi di bagian kepala dari *epididymis* hampir 50% dari jumlah spermatozoa terdapat dibagian *cauda epididymis* (Partodiharjo, 2009).

C. Kualitas Semen

Semen adalah hasil ejakulasi yang terdiri dari spermatozoa yang dihasilkan oleh testes dan tercampur dalam plasma semen, berupa cairan yang dihasilkan oleh testes dan kelenjar aksesoris lainnya (Toelihere, 1993). Kualitas semen yang baik akan menghasilkan angka konsepsi yang tinggi (Pratiwi, 2006). Penentuan kualitas dan kuantitas semen dapat diamati melalui pemeriksaan makrokopis dan mikrokopis (Toelihere, 1993). Selanjutnya Toelihere (1993) menambahkan pemeriksaan makrokopis meliputi volume, pH, warna, konsistensi dan bau, Pemeriksaan mikrokopis meliputi gerakan masa, gerak inividu, konsentrsi, pewarnanan diferensiasi morfologi spermatozoa hidup dan mati, normal dan abnormalitas serta aktifitas metabolisme spermatozoa.

Salisbury dan Van Demark (1993) menyatakan bahwa ada tiga motilitas spermatozoa (a) Gerakan progresif (b) Gerakan berputar (c) Gerakan ditempat dua tipe gerakan terakhir disebabkan oleh gerak ekor yang abnormal dan motilitas kurang dari 50 % akan menghasilkan angka konsepsi yang lebih rendah. Koonjaenak dan Martinez (2007) melihat abnormalitas spermatozoa dideteksi dengan metode pewarnaan dan biasanya digolongkan sebagai kepala, badan dan ekor yang abnormal. Abnormalitas sperma yang paling umum adalah kepala berbentuk buah pir, tetesan sitoplasma proksimal, ekor bengkok, dan ekor melingkar di bawah kepala (Suardi, 2002)..

Kualitas spermatozoa hasil ejakulasi dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti lama siang hari, musim, umur ternak dan pakan (Partodiharjdo, 2009). Lama penyinaran atau panjang siang hari merupakan faktor lingkungan penting yang mempengaruhi reproduksi dan aktivitas seksual sapi (Sansone *et al.*, 2000). Pada musim dingin akan dihasilkan kualitas sperma yang lebih baik dari pada musim panas (Partodiharjdo, 2009). Pada musim panas sapi mempunyai tingkat stress yang lebih tinggi karena sapi sangat sensitif terhadap stres panas, sehingga kualitas semen akan menurun pada musim panas (Sansone *et al.*, 2000). Faktor lain yang mempengaruhi kualitas semen adalah usia sapi. Sapi dewasa akan menghasilkan kualitas semen yang lebih baik dibandingkan sapi yang baru mencapai dewasa kelamin, tiap individu sapi juga mempunyai kualitas semen yang berbeda (Saeed, *et al.* 1990).

D. Pengenceran Semen

Setelah pengambilan semen dari pejantan dengan menggunakan vagina buatan maka selanjutnya dilakukan pengenceran (Toelihere, 1993). Selanjutnya

Jarak kandang tempat pengumpulan semen terkadang agak jauh hal ini membutuhkan waktu tempuh yang cukup lama. Vale *et al.*, (1991) mengemukakan bahwa spermatozoa sebaiknya dibiarkan selama 10 – 15 menit di dalam plasmanya sebelum diencerkan. Namun sifat semen yang bisa mengalami aglutinasi, maka sebaiknya semen segera diencerkan setelah ejakulasi agar tidak terjadi aglutinasi semen dan motilitas semen tetap terjaga (Sansone *et al.* 2000). Pengenceran menurut Saacke (1982) akan mempengaruhi kualitas spermatozoa dari semen yang dihasilkan, disamping itu penyimpanan dan proses penanganan lainnya juga akan mempengaruhi kualitas spermatozoa.

Media pengencer yang digunakan harus mampu melindungi spermatozoa selama proses pendinginan, pembekuan dan thawing (Salamon dan Maxwell, 2000). Menurut Sansone *et al.*, (2000) pengencer akan menentukan kualitas dari semen beku yang dihasilkan, pengenceran dengan tingkat perbandingan 1:1 sampai 1:12 telah berhasil dilakukan pada semen sapi. Perbandingan volume pengencer dengan volume semen sebaiknya didasarkan pada konsentrasi sperma (Purdy, 2006). Media pengencer biasanya terdiri dari buffer, krioprotektan dan zat-zat lain yang ditambahkan kedalam pengencer, yang melindungi spermatozoa selama pembekuan dan *thawing*, antibiotik biasanya juga ditambahkan kedalam media pengenceran (Sansone *et al.*, 2000).

Kuning telur dipakai dalam media pengenceran sebagai krioprotektan non-permeabel yang umum dipakai untuk sebagian besar spesies ternak termasuk sapi (Sansone *et al.*, 2000). Kuning telur dipercaya secara luas bahwa low density lipoprotein (LDL) yang terkandung memberikan perlindungan spermatozoa selama kriopreservasi. LDL melekat pada membran spermatozoa dan memberikan

perlindungan pada spermatozoa dengan menstabilkan membran. LDL menyerap protein yang merugikan yang ada dalam plasma semen sehingga meningkatkan kemampuan pembekuan spermatozoa (Foote dan Kaproth, 2002). Beberapa penelitian dilakukan mengenai penggunaan level kuning telur yang diperlukan untuk semen beku sapi dan umumnya digunakan dengan konsentrasi 20% (Sansone *et al.*, 2000).

Hal ini sejalan dengan pernyataan Toelihere (1993) bahwa kuning telur memiliki kandungan glukosa, protein, vitamin-vitamin yang larut dalam air maupun yang larut dalam minyak, selanjutnya bahwa pengencer sitrat kuning telur terdiri dari bagian kuning telur segar yang dicampur dengan satu bagian penyanggah sirtra natricus. Satu penyanggah sitrat natricus yang isotonic terhadap semen sapi terdiri dari 2,9 g $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ per 100ml aquadestillata.

E. Waktu Equilibrase

Waktu equilibrase adalah periode yang diperlukan spermatozoa sebelum pembekuan untuk menyesuaikan diri dengan pengencer supaya sewaktu pembekuan kematian spermatozoa yang berlebihan dapat dicegah (Toelihere, 1993). Pada equilibrase tidak hanya terjadi keseimbangan konsentrasi Gliserol, tetapi juga komponen ekstender osmotis aktif lainnya (Salamon dan Maxwell 2000). Oleh karena itu, fenomena ini berinteraksi dengan jenis extender (buffer dan krioprotektan) yang digunakan dan dengan mudah dapat berinteraksi dengan prosedur kriogenik lain (Marshall, 1984). Dalam hal ini, Dharni, *et al.* (1996) meneliti equilibrase semen kerbau diencerkan dengan Tris atau asam sitrat selama 2, 4 atau 6 jam. Didapatkan bahwa persentase hidup spermatozoa *post-thawing* lebih baik setelah 4 jam equilibrase dari pada setelah 2 atau 6 jam.

F. Pembekuan Semen

Pembekuan adalah suatu fenomena pengeringan fisik, apabila suatu larutan dibekukan maka pelarut yaitu air membeku menjadi kristal-kristal es dan bahan terlarut tidak bersatu dengan kristal-kristal tersebut melainkan berakumulasi dan makin pekat (Toelihere, 1997). Menurut Novita (2001) Pada pembekuan semen terbentuk kristal-kristal es dan terjadi penumpukan elektrolit serta bahan terlarut lainnya di dalam larutan atau dalam sel. Kristal-kristal es intraseluler dapat merusak spermatozoa secara mekanik. Selanjutnya Novita (2001) mengemukakan selama proses pembekuan dapat terjadi penurunan motilitas yang disebabkan karena pengaruh pengencer atau kerusakan yang disebabkan oleh proses pembekuan (*cold shock*). Kematian spermatozoa selama pembekuan berkisar antara 20-80% dengan rata-rata 50 % kualitas semen.

Peningkatan kualitas semen beku sangat ditentukan oleh pemrosesan spermatozoa dari saat koleksi, pengenceran sampai dengan dibekukan, sehingga dapat menaikkan angka kebuntingan (Pratiwi, *et al.* 2006). Pada proses produksi semen beku dengan metode dua tahap terdiri dari beberapa tahapan, antara lain koleksi semen, pengenceran, ekuilibrisasi, *filling* dan *seeding*, *pre freezing* dan *freezing* (Balai Inseminasi Buatan Ungaran, 2011). Pembekuan semen merupakan langkah untuk mempertahankan kualitas semen, motilitas sebelum dilakukan inseminasi buatan (Toelihere, 1993). Acha, *et al.* (2013) melakukan penelitian pada spermatozoa keledai dengan pengambilan secara ejakulasi. Pembekuan dilakukan dengan perlakuan (i) pendinginan dalam kontainer selama 2 jam dan pembekuan dalam N₂ Cair (ii) pendinginan menggunakan alat yang diprogram dengan kecepatan $-2^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ dari 25 sampai 22° . $-0.3^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ antara 22°C dan 10°C , dan $-0.2^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ dari 10 sampai 4°C dan pembekuan menggunakan N₂ Cair

- (iii) pendinginan dalam lemari es pada suhu 5°C selama 1 jam dan pembekuan dengan kecepatan $-6^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ dari 5 sampai -8°C dan -4°C antara -8°C dan -50°C
- (iv) ultra-rapid pembekuan dalam N_2 cair.

G. Thawing

Thawing sama pentingnya dengan fase pembekuan bagi kelangsungan hidup spermatozoa. Menurut Marshall (1984) spermatozoa yang telah bertahan selama pendinginan dalam suhu -196°C harus dilakukan pencairan kembali. Pengaruh pencairan tergantung pada apakah tingkat pendingin telah cukup tinggi untuk menginduksi pembekuan intraselular atau cukup rendah untuk menghasilkan dehidrasi sel (Toelihere, 1993).

Thawing pada temperatur tinggi untuk waktu yang terlalu lama dapat mengakibatkan fluktuasi pH, denaturasi protein dan kematian sel (Pratiwi *et al.*, 2007). Thawing untuk semen beku sapi dari beberapa hasil penelitian menganjurkan thawing menggunakan air kran pada suhu 35°C minimal 30 detik (Marshall, 1984). Untuk semen beku sapi dalam pengencer Tris, Rao, *et al.*, (1986) menguji dua cara thawing (37°C selama 30 detik dan 75°C selama 9 detik). Dari hasil penelitian disimpulkan bahwa nilai terbaik didapatkan pada semen yang dithawing pada suhu 37°C selama 30 detik. Hasil penelitian Dhami, *et al.*, (1996) suhu thawing terbaik untuk semen beku sapi adalah 4°C selama 5 menit, 40°C selama 1 menit dan 60°C selama 15 detik. Dapat disimpulkan bahwa thawing pada suhu 60°C selama 15 detik menghasilkan kualitas post-thawing terbaik pada spermatozoa sapi.

III. MATERI DAN METODE

A. Materi Penelitian

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah spermatozoa dari 4 buah *cauda epididymis* sapi Peranakan Simmental dengan umur 2-4 tahun yang telah dipotong di Rumah Potong Hewan (RPH) Tradisional Piai dan Pasar Bandar Buat Padang.

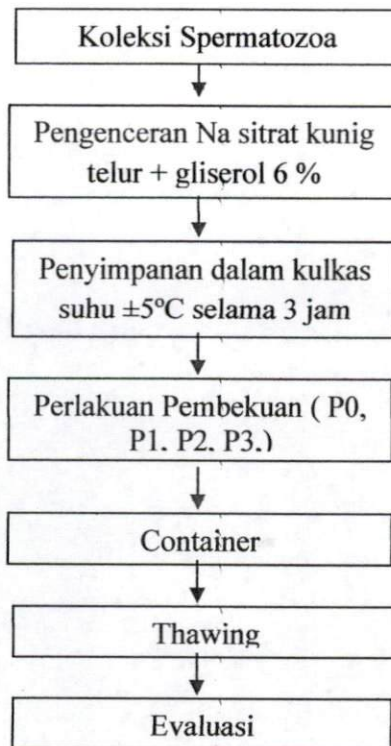
Alat-alat yang digunakan yaitu komputer kontrol rate *freezer*, kontainer, mikroskop, gelas obyek dan penutup, tabung reaksi, ministraw 0,25 ml, gelas ukur 100 ml, timbangan analitik, lemari es, inkubator, batang pengaduk, kertas saring, jarum suntik, kertas lakmus, tisu, cawan petri, kertas label dan lain-lain.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : spermatozoa, natrium sitrat, fruktosa, kuning telur yang berasal dari telur ayam ras, gliserol, penisilin, streptomisin, aquabidest, pewarna eosin 2%, NaCl fisiologis 3%, nitrogen cair, dan alkohol 96%.

B. Metode Penelitian

1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara eksperimen dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK), dengan empat perlakuan dan empat kelompok pengambilan spermatozoa dari *cauda epididymis* sapi Peranakan Simmental sebagai ulangan. Alur rancangan penelitian dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Rancangan penelitian

Perlakuan:

P0 = perlakuan kontrol dilakukan berdasarkan standar BIB Lembang dengan penguapan diatas N₂ cair kecepatan penurunan suhu $\pm 22,2^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ selama 9 menit .

P1 = perlakuan pembekuan dengan kecepatan penurunan suhu $15^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ dari 5°C sampai (-120°C) .

P2 = perlakuan pembekuan dengan kecepatan penurunan suhu $20^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ dari 5°C sampai (-120°C) .

P3 = perlakuan pembekuan dengan kecepatan penurunan suhu $25^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ dari 5°C sampai (-120°C)

Waktu perlakuan pembekuan dengan penurunan suhu P1, P2, P3 adalah selama 9 menit sesuai dengan standar prosedur operasional pembekuan semen menurut Dinas Peternakan Provinsi Sumatra Barat (2013).

2. Pelaksanaan Penelitian

a) Pengambilan Spermatozoa *Cauda Epididymis* Sapi Peranakan Simmental

Testis diambil di Rumah Potong Hewan (RPH) Tradisional Piai dan Bandar Buat Padang. Sampel spermatozoa diambil dari metode aspirasi menggunakan jarum suntik 3 ml yang telah berisi larutan Media TALP sebanyak 0,5 cc, jarum ditusukkan pada posisi *cauda epididymis* sampai bagian cauda membengkak. Setelah bagian cauda membengkak *cauda epididymis* disayat dan spermatozoa di tampung pada cawan petri kemudian spermatozoa siap di evaluasi.

b) Evaluasi spermatozoa segar.

Evaluasi spermatozoa setelah penampungan dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis.

1) Pengamatan secara makroskopis menurut Partodihadjo (2009).

- Volume : spermatozoa yang didapat langsung terbaca pada tabung penampung yang berskala.
- Warna : spermatozoa sapi normal berwarna seperti susu atau krem keputih-putihan dan keruh.
- Konsistensi : Konsistensi dapat diperiksa dengan menggoyangkan tabung yang berisi spermatozoa secara perlahan-lahan dan dimiringkan serta diamati kekentalannya. spermatozoa yang baik derajat kekentalannya hampir sama atau sedikit lebih kental dari susu. Sedangkan yang jelek, baik warna maupun kekentalannya sama dengan air buah kelapa.
- pH : Ditentukan dengan mencelupkan kertas pH universal kedalam spermatozoa, perubahan warna pH dicocokkan dengan warna

standar.

Bau : Umumnya semen sapi yang normal berbau khas.

2) Pengamatan Secara Mikroskopis.

Gerakan Massa. Diamati dengan cara meneteskan satu tetes spermatozoa diatas objek glass dan diperiksa dibawah mikroskop dengan pembesaran 10 x 10 dan cahaya yang dikurangi. Kemudian dilihat gelombang-gelombang yang ditimbulkan oleh gerakan spermatozoa. Kualitas spermatozoa yang baik dapat ditentukan dengan memberi tanda sebagai berikut :

- +++ (sangat baik) : terlihat gelombang-gelombang besar, banyak, gelap, tebal, aktif, dan bergerak cepat.
- ++ (baik) : terlihat gelombang-gelombang kecil, tipis, jarang, kurang jelas dan bergerak lamban.
- + (cukup) : tidak terlihat gelombang melainkan gerak individual aktif progresif.
- 0 (buruk) : bila hanya sedikit gerakan atau bahkan tidak ada gerakan individual.

Konsentrasi Spermatozoa. Metode yang digunakan untuk menentukan konsentrasi spermatozoa adalah penghitungan dengan haemocytometer. Pipet diisi dengan spermatozoa yang belum diencerkan sampai tanda 0,5. Larutan NaCl 3% dihisap sampai tanda 101 pada pipet, larutan tersebut mengencerkan sekaligus membunuh spermatozoa. Campuran ini dikocok hati-hati menurut angka delapan selama dua sampai tiga menit, beberapa tetes dibuang dan dikocok lagi, kemudian satu tetes diletakkan dibawah gelas penutup pada kamar hitung sel. Spermatozoa dihitung dibawah mikroskop dengan pembesaran 45 x 10. Setiap kamar

mempunyai 16 ruangan kecil dan didalam 5 kamar terdapat 80 ruangan kecil. Seluruh gelas haemocytometer memiliki 400 ruangan kecil dengan volume 0.1 mm³ didalam kamar kecil terdapat x spermatozoa, maka konsentrasi spermatozoa dihitung berdasarkan rumus (Toelihere, 1993) adalah :

$$X \times \frac{400}{80} \times 100 \times 200 = 1000 \times X \text{mm}^3 = X \times 10^7 \text{ sperma/ml}$$

c) Pengenceran Spermatozoa

Volume spermatozoa yang didapat dibagi menjadi empat bagian, selanjutnya diencerkan dengan pengencer yang telah disiapkan yaitu Sitrat Kuning Telur disiapkan sebelum pengambilan semen. Bahan tersebut terdiri dari Sitrat Natrium (Na₃ C₆ H₅O₇ 2H₂O) 2,9 gram, fruktosa 1 gram, gliserol 6 %, penicilin 1.000 IU/ml, dan streptomisin 1,000mg/ml, dalam 100 ml aquabidest. Campurkan sitrat natrium dengan kuning telur, dengan perbandingan 1:4 yaitu 1 bagian kuning telur dan 4 bagian sitrat natrium dalam satuan ml, dilakukan sesuai perlakuan (P0, P1, P2, P3).

d) Pendinginan (Ekuilibrasi)

Spermatozoa yang telah diencerkan dimasukkan kedalam ministraw 0,25 ml dan disimpan dalam lemari es dengan suhu ± 5°C selama 4 jam untuk ekuilibrasi (Tejowati, 1997). Hal ini dimaksudkan agar kematian spermatozoa yang berlebihan dapat dicegah pada waktu pembekuan (Toelihere, 1993).

e) Pembekuan

Setelah ekuilibrasi, spermatozoa dalam ministraw 0,25 ml dimasukkan ke dalam freezer (*control rate computer*) dengan pemrograman suhu sesuai dengan perlakuan. Perlakuan P1 pembekuan dengan kecepatan penurunan suhu

15⁰C/menit dari 5⁰C sampai (-120⁰). Perlakuan P2 pembekuan dengan kecepatan penurunan suhu 20⁰C/menit dari 5⁰C sampai (-120⁰C). Perlakuan P3 pembekuan dengan kecepatan penurunan suhu 25⁰C/menit dari 5⁰C sampai (-120⁰C) pada masing-masing perlakuan pembekuan yaitu selama 9 menit (P1, P2, P3), sedangkan perlakuan P0 sebagai kontrol dilakukan berdasarkan standar BIB lembang dengan penguapan diatas N2 cair dengan kecepatan penurunan suhu 22,2⁰C/menit selama 9 menit. Sadhan *et al.*, (2002) menemukan penurunan suhu dari 5⁰C sampai mencapai -125⁰C memberikan hasil kemampuan cryopreservasi terbaik setelah thawing. Selanjutnya straw dimasukan kedalam kontainer yang telah berisi N2 cair dengan suhu -196⁰C.

d) Thawing

Pencairan kembali spermatozoa beku yang telah disimpan dalam kontainer, dilakukan sesuai prosedur menurut Toelihere (1993). Straw diambil dari kontainer kemudian dicelupkan ke dalam air suhu 36⁰C selama 12 detik. Kemudian ujung straw dipotong dan spermatozoa ditampung dalam objek gelas selanjutnya diamati dibawah mikroskop.

3. Parameter yang diamati

a) Motilitas Spermatozoa

Motilitas spermatozoa diukur dengan metode pergerakan dalam persen (%). Jumlah spermatozoa yang bergerak ditaksir dan dinyatakan dalam persen (%). Perbedaan penaksiran hanya dalam puluhan persen (%) (Partodihardjo, 2009).

b) Persentase Hidup Spermatozoa

Ditentukan dengan teknik pewarnaan eosin yaitu dengan membuat preparat ulas, kemudian diperiksa dibawah mikroskop dengan pembesaran 45 x 10. Spermatozoa yang mati akan menyerap warna karena meningkatkan permeabilitas, sedangkan yang hidup tidak menyerap warna. Spermatozoa dihitung paling sedikit 200 sel, kemudian ditentukan persentase dengan rumus (Toelihere, 1993);

$$\text{Persentase Hidup} = \frac{\text{jumlah spermatozoa yang hidup}}{\text{jumlah spermatozoa dihitung}} \times 100\%$$

c) Abnormalitas Spermatozoa

Abnormalitas ditentukan dengan membuat preparat ulas yang tipis dengan pewarnaan differensial lalu diamati dibawah mikroskop dengan melihat spermatozoa yang abnormal, kemudian dihitung kira-kira 200 spermatozoa. Menurut Toelihere (1993) spermatozoa abnormalitas dapat dilihat dari perubahan morfologinya seperti ekor menggulung, ekor terputus dan bagian tengahnya terlipat. Kemudian ditentukan dengan rumus (Toelihere, 1993);

$$\text{Persentase Abnormalitas} = \frac{\text{jumlah spermatozoa abnormal}}{\text{jumlah spermatozoa yang dihitung}} \times 100$$

4. Analisis Data

Data yang diperoleh pada penelitian dianalisis dengan Rancangan Acak Kelompok model matematis yang digunakan adalah (Steel dan Torrie, 1991):

Model Umum Rancangan Acak Kelompok (RAK) sebagai berikut :

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + E_{ij}$$

Dimana: Y_{ij} = Hasil pengamatan pada unit percobaan yang mendapat perlakuan ke i dan kelompok ke j

μ = Nilai tengah umum

T_i = Pengaruh perlakuan ke i

β_j = Kelompok atau blok ke j

E_{ij} = Hasil pengamatan dari pengaruh sisa yang mendapat perlakuan ke i dan kelompok ke j

Tabel 1. Analisis Keragaman Rancangan Acak Kelompok

SK	db	JK	KT	F.hitung	F table	
					0,05	0,01
Perlakuan	a - 1	JKP	JKP/a-1	KTP/KTS		
Kelompok	b - 1	JKK	JKK/b-1			
Sisa	(a-1)(b-1)	JKS	JKS/(a-1)(b-1)			
Total	ab - 1	JKT				

Data yang didapat dianalisis dengan sidik ragam, bila terdapat pengaruh yang nyata dari perlakuan, dilakukan uji lanjutan duncan multiple range test (DMRT).

5. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Reproduksi Ternak dan Laboratorium Bioteknologi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Andalas dari tanggal 21 Juli 2014 sampai dengan 02 September 2014.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Kualitas Spermatozoa Segar

Hasil penilaian secara makroskopis dan mikroskopis menunjukkan sebagai dasar dalam menentukan kelayakan spermatozoa untuk diproses lebih lanjut. Hasil Evaluasi spermatozoa segar asal *cauda epididymis* sapi Peranakan Simmental dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Evaluasi Spermatozoa segar.

Pengamatan	Ulangan				Total	Rataan
	1	2	3	4		
Makroskopis						
Volume (ml)	0,7	0,5	0,6	0,6	2,3	0,57
Warna	P.S	K	K	P.S	-	-
Bau	N	N	N	N	-	-
pH	7	7	7	7	28	7
Konsistensi	P	S	S	P	-	-
Mikroskopis						
Gerakan massa	+++	++	+++	+++	-	-
Konsentrasi (10^7)	187	173	182	191	733	183,25
Motilitas (%)	80	70	70	80	300	75
Persentase hidup (%)	83,00	78,50	85,36	84,00	330,86	79,62
Abnormalitas (%)	13,54	12,70	14,48	15,59	56,31	14,07
Ket : K = Krem P = Pekat N = Normal						
P.S = Putih susu S = Sedang ++ = Baik						
+++ = Sangat baik						

Volume. Volume spermatozoa yang diperoleh selama penelitian secara berturut-turut adalah 0,7 ml, 0,5 ml, 0,6 ml, 0,6 ml dengan rata-rata 0,57 ml. Hasil spermatozoa yang didapat dari *cauda epididymis* sapi Peranakan Simmental dalam penelitian ini sama dengan yang dikemukakan oleh Toelihere (1993) bahwa volume spermatozoa dari *cauda epididymis* sapi bervariasi antara 0,15–0,6 ml. *cauda epididymis* yang digunakan dalam penelitian ini adalah *cauda epididymis* sapi Peranakan Simmental yang dewasa kelamin berkisar umur 2-4 tahun.

Warna. Warna spermatozoa bervariasi dari putih susu sampai krem dan perbedaan warna spermatozoa disebabkan oleh konsentrasi spermatozoa (Vale, 1994). Selama empat kali pengambilan *cauda epididymis* sapi Peranakan Simmental diperoleh adalah warna putih susu atau krem. Menurut Toelihere (1997) warna spermatozoa sapi yang normal adalah seperti putih susu atau krem keputih-putihan atau keruh yang mana derajat kekeruhannya tergantung kepada konsentrasi spermatozoa. Selanjutnya Feradis (2010) mengemukakan tingginya konsentrasi spermatozoa tampak pada warna semen tersebut, semakin pekat warna semen maka semakin tinggi pula konsentrasinya dan begitu pula sebaliknya.

Bau. Bau spermatozoa yang diperoleh selama penelitian adalah normal, berbau khas spermatozoa. Pada dasarnya spermatozoa diperoleh dari *cauda epididymis* sapi memiliki bau yang tidak berbeda signifikan yaitu bau khas spermatozoa. Pendapat Toelihere (1993) bahwa bau spermatozoa normal adalah berbau khas atau merangsang.

pH. Penilaian pH diukur dengan cara mengambil sedikit spermatozoa kemudian ditetaskan ke kertas lakmus dan diamati perubahan yang sama dengan pH BTB paper. Pada empat kali pengambilan spermatozoa asal *cauda epididymis* sapi Peranakan Simmental didapatkan rata-rata pH yaitu 7, Nilai ini termasuk normal karena kisaran pH semen sapi adalah 6,4-7,8 (Hafez, 2000). Selanjutnya derajat keasaman memegang peran yang sangat penting karena mempengaruhi viabilitas spermatozoa.

Konsistensi. Konsistensi semen yang baik, derajat kekentalannya hampir sama atau sedikit lebih kental dari susu, sedangkan semen kurang baik, warna maupun kekentalannya sama dengan air buah kelapa (Hafez, 2000). Berdasarkan

empat kali pengambilan *cauda epididymis* sapi Peranakan Simmental konsistensi yang diperoleh adalah sedang sampai pekat. Konsistensi atau derajat kekentalan diperiksa dengan mengangkat tabung reaksi yang telah berisi spermatozoa secara perlahan. Toelihere (1993) mengemukakan bahwa spermatozoa dengan konsistensi krem mempunyai konsentrasi 1000 juta sampai 2000 juta sel per milliliter atau lebih.

Gerakan Massa. Hasil evaluasi yang dilakukan selama penelitian dari empat kali pengambilan semen asal *cauda epididymis* sapi Peranakan Simmental tiga kali pengambilan semen mempunyai gerakan massa sangat baik (+++) dan satu kali pengambilan semen mempunyai gerakan massa baik (++). Hasil analisa diperlihatkan dengan adanya gelombang awan hitam, gelap, tebal dan pergerakannya cepat, ini berarti bahwa semen tersebut memiliki pergerakan massa yang cukup baik untuk diolah menjadi semen beku. Seperti dinyatakan Partodihardjo (2009) gerakan massa berhubungan erat dengan konsentrasi dan motilitas spermatozoa bila semen segar memiliki gerakan massa +++ artinya tingkat kepadatan spermatozoa tinggi, gelombang bergerak cepat, dan diperkirakan terdapat 90% bahkan lebih spermatozoa yang aktif.

Konsetrasi. Empat kali pengambilan spermatozoa asal *cauda epididymis* sapi Peranakan Simmental yang dilakukan selama penelitian diperoleh konsentrasi berturut-turut : 187×10^7 , 173×10^7 , 183×10^7 dan 191×10^7 spermatozoa per ml semen dengan rata-rata $183,25 \times 10^7$ spermatozoa per ml semen. Hasil yang diperoleh pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan yang dilaporkan Rizal (2009) pada sapi Bali yaitu rata-rata 11.222,50 juta sel/ml (kisaran 10.590–11.780 juta sel/ml) dan Fadhilah (2013) pada sapi Pesisir dengan

rataan $152,5 \times 10^7$. Konsentrasi spermatozoa *cauda epididymis* pada hewan mamalia dilaporkan sebesar 10.000–50.000 juta sel/ml (Senger, 1999). Menurut Situmorang (2002) perbedaan konsentrasi spermatozoa antar pejantan diduga disebabkan karena kualitas genetik pada masing-masing pejantan.

Motilitas. Nilai motilitas spermatozoa segar *cauda epididymis* sapi Peranakan Simmental selama penelitian adalah rata-rata 75%. Nilai ini sama dengan yang diperoleh Rizal (2009) pada spermatozoa *cauda epididymis* sapi Bali dengan rata-rata 75%. Menurut Bearden *et al.* (2004) nilai motilitas semen sapi antara 70% sampai 80%. Banyak faktor-faktor yang mempengaruhi perbedaan nilai motilitas spermatozoa seperti perbedaan antar bangsa, umur, kematangan spermatozoa dan plasma semen (Hafez, 2000).

Persentasi Hidup. Persentase hidup spermatozoa yang diperoleh selama empat kali pengambilan spermatozoa asal *cauda epididymis* sapi Peranakan Simmental rata-rata adalah 79,62%. Menurut Hafez (2000) spermatozoa hidup yang berkaitan erat dengan motilitas, dipengaruhi oleh umur spermatozoa, maturasi spermatozoa, penyimpanan energy (ATP), agen aktif, biofisik dan fisiologik dan adanya rangsangan atau hambatan.

Evaluasi spermatozoa yang hidup dan mati dibedakan dengan reaksinya terhadap warna yang biasa diberikan yaitu eosin. Spermatozoa yang tidak motil dan dianggap mati bersifat menyerap warna dan spermatozoa yang motil yang dianggap hidup tidak menyerap berwarna. Menurut Susilawati (2011) bahwa eosin dan eosin negrosin adalah pewarna yang biasa dipergunakan dalam pengamatan persentasi hidup dan abnormalitas spermatozoa, sehingga pengamatan

spermatozoa yang berwarna dan tidak berwarna menjadi jelas dan spermatozoa yang berwarna sebagian juga dianggap mati.

Abnormalitas. Evaluasi abnormalitas dilakukan berdasarkan pengamatan pada ekor, kepala dan bentuk yang tidak normal. Hasil pengamatan abnormalitas spermatozoa yang diperoleh selama penelitian dari empat kali pengambilan spermatozoa asal *cauda epididymis* sapi Peranakan Simmental adalah dengan rata-rata 14,07%. Hasil ini lebih tinggi yang diperoleh Rizal (2009) terhadap *cauda epididymis* Domba Perianggan yaitu 8,9%, sedangkan Fadhilah (2013) melaporkan rata-rata abnormalitas spermatozoa *cauda epididymis* sapi pesisir adalah 13,50%, hasil ini tidak berbeda signifikan. Abnormalitas spermatozoa pada sapi sekitar 20% fertilitas akan menurun (Susilawati, 2011). Ditambahkan Toelihere (1997) bahwa selama abnormalitas spermatozoa belum mencapai 20% dari contoh semen, maka semen tersebut masih bisa dipakai untuk inseminasi buatan.

B. Pengaruh Perlakuan Terhadap Motilitas spermatozoa

Rataan motilitas spermatozoa sapi Peranakan Simmental setelah diencerkan dengan Natrium sitrat dan kuning telur dan selanjutnya di bagi atas empat perlakuan pembekuan yang berbeda dan perlakuan P0 sebagai kontrol (kecepatan penurunan suhu $22,2^{\circ}\text{C}/\text{menit}$) , P1 (pembekuan dengan kecepatan penurunan suhu $15^{\circ}\text{C}/\text{menit}$), P2 (pembekuan dengan kecepatan penurunan suhu $20^{\circ}\text{C}/\text{menit}$) dan P3 (pembekuan dengan kecepatan penurunan suhu $25^{\circ}\text{C}/\text{menit}$) dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Motilitas spermatozoa untuk masing-masing setelah perlakuan pembekuan (%).

Kelompok	Perlakuan kecepatan penurunan suhu (°C/menit)			
	Kontrol (P0)	15 (P1)	20 (P2)	25 (P3)
I	40	40	30	30
II	30	40	30	20
III	40	40	20	20
IV	40	40	30	20
Total	150	160	110	90
Rata-rata	37,5 ^a	40 ^a	27,5 ^b	22,5 ^b

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

Dari tabel di atas terlihat bahwa rata-rata motilitas untuk masing-masing perlakuan P0 sebagai kontrol dengan kecepatan penurunan suhu 22,2°C/menit, P1 kecepatan penurunan suhu 15°C/menit, P2 kecepatan penurunan suhu 20°C/menit, P3 kecepatan penurunan suhu 25°C/menit, adalah 37,5%, 40%, 27,5% dan 22,5% secara berturut-turut. Pada perlakuan kecepatan penurunan suhu 15°C/menit merupakan motilitas tertinggi dan perlakuan kecepatan penurunan suhu 25°C/menit merupakan motilitas terendah. Hasil ini sesuai dengan yang dikemukakan Kwon *et al.* (2002), motilitas dan integritas akrosom spermatozoa dapat dipertahankan pada tingkat laju penurunan suhu optimum yang berada pada kisaran 13°C/menit.

Hasil analisis sidik ragam (Lampiran 1) menunjukkan bahwa kecepatan penurunan suhu selama pembekuan berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) dimana perlakuan P0 yaitu sebagai kontrol dan P1 kecepatan penurunan suhu 15°C/menit berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) dengan P2 kecepatan penurunan suhu 20°C/menit dan P3 kecepatan penurunan suhu 25°C/menit. Menurut Susilawati (2011) pembekuan yang sangat cepat akan menyebabkan *cold shock* dan pembentukan kristal es, pembekuan dengan cara lambat dapat menyebabkan konsentrasi garam

meningkat saat keluarnya air pada saat pembekuan dan meningkatkan tekanan osmose pada periode pembekuan dan merusak protein dan lippo protein dalam spermatozoa dan akrosom. Pada perlakuan kontrol tidak menunjukkan perbedaan nyata pada proses pembekuan, disebabkan proses perlakuan kontrol dilakukan berdasarkan standar BIB dengan penguapan diatas N2 cair selama 9 menit selanjutnya dimasukan kedalam N2 cair dan disimpan dalam container yang berisikan N2 cair. Menurut Hafez (2000) bahan untuk pembekuan yang dapat digunakan adalah dry ice, liquid cair, O2 cair dan N2 cair yang paling populer sebab merupakan pilihan yang cocok karena dapat disimpan dalam waktu yang lama dengan teknik peyimpanan yang mudah dengan menggunakan container.

C. Pengaruh Perlakuan Terhadap Persentase Hidup Spermatozoa.

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan selama penelitian dapat dilihat adanya perbedaan persentase hidup spermatozoa asal *cauda epididymis* sapi Peranakan Simmental pada masing-masing perlakuan seperti pada tabel 4.

Tabel 4. Persentase hidup spermatozoa untuk masing-masing perlakuan (%).

Kelompok	Perlakuan kecepatan penurunan suhu (°C/menit)			
	Kontrol (P0)	15 (P1)	20 (P2)	25 (P3)
I	44,00	54,00	36,00	30,00
II	42,12	48,57	32,00	30,50
III	42,57	44,00	42,18	39,32
IV	38,57	44,17	38,80	36,27
Total	167,26	190,74	148,98	136,09
Rata-rata	41,81 ^{ab}	47,68 ^a	37,24 ^{bc}	34,02 ^c

Keterangan: Superskrip dengan huruf kecil yang berbeda menunjukkan pengaruh yang berbeda sangat nyata (P<0,01).

Pada tabel 4 menunjukkan bahwa perlakuan pembekuan mempengaruhi persentase hidup spermatozoa setelah thawing. Rataan persentase hidup spermatozoa asal *cauda epididymis* sapi Peranakan Simmental pada masing-

masing perlakuan adalah 41,81%, 47,68%, 37,24% dan 34,02%. Dimana rata-rata persentase hidup spermatozoa yang didapat dari perlakuan P1 (pembekuan dengan kecepatan penurunan suhu 15⁰C/menit) menunjukkan nilai rata-rata tertinggi yaitu 47,68% dan yang terendah pada perlakuan P3 (pembekuan dengan kecepatan penurunan suhu 25⁰C/menit). Hasil ini tidak berbeda dengan laporan Herdiawan (2004) bahwa daya tahan spermatozoa domba selama penyimpanan 4 jam tertinggi dicapai pada laju pembekuan dengan penurunan suhu 13⁰C/menit yaitu sebesar 35,54%.

Hasil analisis sidik ragam (Lampiran 2) menunjukkan bahwa kecepatan penurunan suhu selama pembekuan berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap persentase hidup spermatozoa asal *cauda epididymis* sapi Peranakan Simmental. Kecepatan penurunan suhu yang rendah selama pembekuan mampu mempertahankan daya hidup spermatozoa. Menurut Susilawati (2011) kisaran temperatur kritis untuk hidupnya sel adalah -4⁰C menjadi -60⁰C saat pembekuan, sedangkan saat thawing antara suhu -70⁰C menjadi -20⁰C. Berdasarkan data yang diperoleh semakin tinggi kecepatan penurunan suhu yang dilakukan selama pembekuan maka dapat menurunkan viabilitas dan kemampuan memfertilisasi spermatozoa karena saat pembekuan bisa mengakibatkan stress fisik dan perubahan kimia. Menurut Hafez (2008) spermatozoa yang mengalami *cold shock* saat pembekuan diakibatkan adanya stress oksidasi oleh ROS (*Reactive Oxygen Species*).

D. Pengaruh Perlakuan Terhadap Abnormalitas spermatozoa.

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan selama penelitian dapat dilihat adanya perbedaan abnormalitas spermatozoa asal *cauda epididymis* sapi Peranakan Simmental pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Persentasi abnormalitas spermatozoa untuk masing-masing perlakuan (%).

Kelompok	Perlakuan kecepatan penurunan suhu ($^{\circ}\text{C}/\text{menit}$)			
	Kontrol (P0)	15 (P1)	20 (P2)	25 (P3)
I	21,12	22,68	20,15	20,45
II	26,00	13,26	19,02	17,10
III	25,15	17,87	21,87	20,02
IV	22,57	16,86	15,18	23,00
Total	94,84	68,67	76,22	80,57
Rata-rata	23,71 ^a	17,16 ^b	19,05 ^{ab}	20,14 ^c

Keterangan : Superskrip dengan huruf kecil yang berbeda menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata ($P < 0,01$).

Pada tabel 5 terlihat bahwa rata-rata Abnormalitas Spermatozoa asal *cauda epididymis* sapi Peranakan Simmental pada masing-masing perlakuan adalah 23,17%, 17,16%, 19,05%, 20,14%. Dimana nilai rata-rata abnormalitas spermatozoa yang didapat dari perlakuan P1 (pembekuan dengan kecepatan penurunan suhu $15^{\circ}\text{C}/\text{menit}$) menunjukkan nilai rata-rata terendah yaitu 17,16% dan yang tertinggi pada perlakuan P0 (kontrol dengan kecepatan penurunan suhu $22,2^{\circ}\text{C}/\text{menit}$) yaitu 23,17%. Hasil yang dilaporkan Hendriawan (2004) pada laju penurunan suhu $13^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ memberikan hasil nilai rata-rata abnormalitas lebih rendah yaitu sebesar 16,04%, dibandingkan perlakuan laju pembekuan $20^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ dan $7^{\circ}\text{C}/\text{menit}$, yang secara berturut-turut adalah sebesar 22,01% dan 23,04%. Selanjutnya rata-rata abnormalitas spermatozoa paling rendah dicapai pada tingkat perlakuan jenis pengencer Tris-kuning telur sebesar 19,05% dibanding tingkat perlakuan jenis pengencer Sitrat kuning telur yaitu sebesar 21,67%.

Menurut Fatkhawati (2007) apabila ditemukan 20 % atau lebih sperma abnormal maka kualitasnya dianggap jelek. Evaluasi abnormalitas spermatozoa dilakukan dengan membuat preparat ulas yang ditambahkan pewarnaan eosin 2%. Sesuai dengan anjuran Toelihere (1993) penentuan persentase hidup spermatozoa dan abnormalitas dilakukan berdasarkan pewarnaan diferensial. Ada dua macam spermatozoa abnormal menurut Partodihardjo (2009) yaitu abnormalitas primer yang meliputi kelainan pada kepala seperti kepala kecil, kepala besar, kepala kerucut, kepala dua, kepala salah bentuk, kepala bulat, berekor dua, akrosom salah bentuk, berleher besar, sedangkan abnormalitas sekunder meliputi kepala terpisah dari leher, leher patah, ekor kusut, ekor patah dan ekor tergulung. Abnormalitas yang paling banyak dijumpai selama pengamatan dalam penelitian ini adalah abnormalitas sekunder yaitu kepala terpisah dari leher, leher patah, ekor kusut, ekor patah dan ekor menggulung. Abnormalitas sekunder disebabkan perlakuan ketika pembuatan preparat ulas (Solihati, *et al*, 2008). Sedangkan abnormalitas primer seperti kepala terlampau kecil dan ekor ganda.

Hasil analisis sidik ragam (Lampiran 3) menunjukkan bahwa kecepatan penurunan suhu selama pembekuan memberikan pengaruh yang berbeda nyata ($P < 0,01$) terhadap abnormalitas spermatozoa asal *cauda epididymis* sapi Peranakan Simmental yang berarti bahwa kecepatan penurunan suhu selama pembekuan mampu mempertahankan dari kerusakan sehingga jumlah spermatozoa abnormal tetap kecil. Pada tingkat kecepatan selama pembekuan akan berpengaruh sekali pada tingkat abnormalitas spermatozoa sebagai akibat terjadinya perubahan fisik media hidupnya, dari massa ekuilibrisasi menuju proses pembekuan. Menurut Rizal (2009) perubahan tekanan osmotik, maupun

pembentukan kristal-kristal es intraseluler, hal tersebut dapat menyebabkan perubahan struktur spermatozoa seperti bentuk spermatozoa yang ekornya membengkok atau kepala terlepas. Selanjutnya fluktuasi perubahan suhu pembekuan dan pada saat *thawing* akan mengurangi proporsi spermatozoa motil dan menyebabkan kerusakan ultra struktural, biokimia dan fungsional.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan penelitian ini dapat ditarik kesimpulan

1. Kecepatan penurunan suhu selama pembekuan berpengaruh terhadap motilitas, Persentase hidup dan Abnormalitas spermatozoa sapi Peranakan Simmental.
2. Kecepatan penurunan suhu $15^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ menghasilkan persentase terbaik dengan rata-rata persentase motilitas spermatozoa 40%, persentase hidup 47,68%, persentase abnormalitas spermatozoa 17,16%.

B. Saran

1. Dalam proses pembuatan semen beku khususnya spermatozoa yang berasal dari *cauda epididymis* disarankan untuk melakukan penurunan suhu $\pm 15^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ dari suhu 5°C sampai suhu -120°C .
2. Perlu dilakukannya penelitian terhadap viabilitas spermatozoa beku dari *epididymis* baik secara *in vitro* maupun *in vivo* (lapangan).

DAFTAR PUSTAKA

- Acha, D., M. Hidalgo., M. Galves., I. Ortiz., J. Carrasco., V. Gomes Arrones., R. Calero., M. Urbano., L. Ramirez., Demyda-Peyras., and J. Dorado. 2013. Effect of cooling rate on sperm quality of cryopreserved Andalusian donkey spermatozoa. *Reprod in dom. Anim.* (48): 72-124.
- Anonymous. 2014. Human Development. http://faculty.southwest.tn.edu/rburkett/A&P2_reproductive_system_lab.htm.
- Aurich, J., E. U. Schon herr. H. Hoppe and C. Aurich. 1997. Effect of antioxidant on motility and membrane integrity of chilled stallion semen. *Theriogenologi* 8 : 185-192.
- Axner, E., C. L. Forsberg., and S. Einarsson. 1999. Morphology and motility of spermatozoa from different region of the epididymal duct in the domestic cat. *Theriogenology* (45): 767-777.
- Balai Inseminasi Buatan Lembang. 2010. Standar Prosedur Proses Pembekuan Semen. Produksi Semen Beku. BIB Lembang, Lembang.
- Balai Inseminasi Buatan Ungaran. 2011. *Petunjuk Teknis (Juknis) Produksi Semen Beku*. BIB Ungaran, Ungaran.
- Bearden, H. J., and J. W. Fuquay. 2004. *Applied Animal Reproduction*. 2nd Ed. Rest and Publishing Co. Inc. A Prentice Hall Company. Virginia. pp. 196-199.
- Dhami, A. J dan K. I. Sahni. 1996. Effect of various cooling from 30⁰C to 5⁰C, equilibration and diluents treatment on freezability, post-thaw themoresistance, enzyme leakage and fertility of bubline spermatozoa. *Buffalo J.* 2:147-159.
- Fadhillah, A. 2013. *Penggunaan Beberapa Dosis Vitamin E Dalam Pengencer Sitrat Kuning Telur Untuk Mempertahankan Kualitas Semen Beku Asal Cauda Epididymis Sapi Pesisir*, Skripsi. Fakultas Peternakan Universits Andalas, Padang.
- Fatkhawati, I. (2005). *Hubungan Diameter Testis Dan Epididimis Terhadap Kualitas Spermatozoa Pada Sapi*. Skripsi. Universitas Islam Negri Malang. Malang.
- Feradis, A. H., D. Pawitri, I. K. Suatha, M. Rizal Amin, T. L. Yusuf, D. Sajuthi, I. N. Budiarsa and E. S. Hayes. 2010. Cryopreservation of epididymal spermatozoa collected by needle biopsy from cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *J. Med. Primatol.* 30: 100-106.
- Foote R. H., and M. T., Kaproth. 2002. Large batch *freezing* of bull semen: effect of time of *freezing* and fructose on fertility. *J. Dairy Sci.* 85:453-456.

- Frandsen, R. D. 1992. Anatomi dan Fisiologi Ternak. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.
- Hadi, P. U. dan N. Ilham. 2002. Peluang Pengembangan Usaha Pembibitan Ternak Sapi Potong Di Indonesia Dalam Rangka Swasembada Daging. Direktorat Jendral Bina Produksi Peternakan, Jakarta.
- Hafez, E. S. E., 2000. Reproduction in Farm Animals, 5 th Edition. Lea and Febringer, Philadelphia 460-478.
- Herdiawan. 2004. Pengaruh Laju Penurunan Suhu dan Jenis Pengencer Terhadap Kualitas Semen Beku Domba Priangan. *JITV Vol. 9 No 2 Th. 2004*
- Sadhan, B. Joshi. A., Naqvi, S.M.K, P.S. Rawat, and J.P Mittal. 2002. Effect of freezing temperature at which straws were plunged into liquid nitrogen on the post-thaw motility and acrosomal status of ram spermatozoa. *Anim Reprod Sci. vol. 72; 175-183.*
- Kumar, D. A. Joshi. S.M.K. Naqvi. 2009. Effect of post-thaw incubation on semen characteristics of ram spermatozoa cryopreserved under controlled rate of cooling. *Anim. Reprod. 6;526-534.s*
- Koonjaenak, S. and H. R Martinez. 2007. Assessment of semen quality in swamp buffalo al bull in Thailand. *Ital.J. Anim. Sci. (6):701-704.*
- Kwon, A. Y., H. J. Ko and C.S. Park. 2002. Effect of diluent component, freezing rate, thawing time, and thawing temperature on AC acrosoma morphology, and motility of frozen thawed boar semen. *Asian-Aust. J. Anim. Sci. 15: 247-249.*
- Marshall, C. E., 1984. Considerations for cryopreservation of semen. *Zoo Biol. 3:343-356.*
- Maxwell, W. M. C., and P. F. Watson. 1996. Recent progress in The Preservation of Ram Sement. *Anim. Reprod. Sci. 42:55-65.*
- Novita, H. R. 2001. Pengaruh Penambahan Antioksidan Pada Semen Segar dan *Cold Shock* Terhadap Kualitas Spermatozoa Setelah Pembekuan. Skripsi. Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Park, C. S., and V. G. Pursel. 1993. Effect of freezing rate on boar sperm frozen in maxi-straw. *J. Anim. Sci. 61 : 441.*
- Partodihardjo, S. 2009. Ilmu Reproduksi Hewan. Mutiara Widya, Cetakan Ketiga, Jakarta.
- Purdy, P. H. 2006. A review on goat sperm cryopreservation. *Small. Rumin Res. 63:215:327-344.*

- Pratiwi, W. C., L. Affandhy dan D. Ratnawati. 2006. Pengaruh Lama Thawing terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Limousin dan Brahman. *Animal Production* 11(1): 48 - 52.
- Rasul, Z., N. Ahmad and M. Anzar. 2001. Changes in motion characteristics, plasma membrane integrity and acrosome morphology during cryopreservation of buffalo spermatozoa. *J. Androl.* 22: 278-283.
- Rao, A.V.N., G.B. Haranath, G.S. Sekharam, and J.R. Rao. 1986. Effect of thaw rates on motility, survival and acrosomal integrity of buffalo spermatozoa frozen in medium French straws. *Anim. Reprod.Sci.* 6:48-52.
- Rianto, E. 2010. Pidato pengukuhan meningkatkan produksi ternak potong di Indonesia. Universitas Diponegoro. Vol. 978-979.
- Rizal, M. 2005. Fertilitas Spermatozoa Ejakulat dan Epididimis Domba Garut Hasil Kriopreservasi Menggunakan Modifikasi Pengencer Tris dengan Berbagai Krioprotektan dan Antioksidan. *Disertasi. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.*
- Rizal, M. 2009. Daya Hidup Spermatozoa Epididimis Sapi Bali yang dipreservasi pada suhu 3-5°C dalam pengencer Tris dengan Laktosa yang Berbeda. Jurusan Peternakan. Fakultas Peternakan Universitas Pattimura. Ambon.
- Sadhan, B. Joshi. A., Naqvi, S.M.K, P.S. Rawat, and J.P Mittal. 2002. Effect of freezing temperature at which straws were plunged into liquid nitrogen on the post-thaw motility and acrosomal status of ram spermatozoa. *Anim Reprod Sci.* vol. 72; 175-183.
- Saacke, R. G. 1982. What happens when a sperms is frozen and thawed. Proceeding of the 9th technical conference on artificial insemination and reproduction. Held april 30-mei in Milwaukee, wisconsin. National Associatin of Animal Breeders and NAAB. 6-12.
- Saeed, A., Chaudhry, R.A., Khan, I.H and Khan, N.U. 1990. Morphology of semen buffalo bull of different ag groups. In: Acharva Lokeshwar, R.R., Kumar, S. Eds., *Recent Advances in Bufallo Research* Vol. 3 pp. 17-19.
- Salamon S. and Maxwell WMC. 2000. Storage of ram semen. *Anim Reprod Sci* 62:77-111
- Salisbury, G. W., dan N. L. Van Demark. 1993. *Fisiologi dan Reproduksi Pada Sapi (Physiology of Reproducton and Artificial Insemination of Cattle)*. Terjemahan. Djanuar, R. (ed). Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Sansone, G., M. J. F. Nastri., and A. Fabbrocini. 2000. Storage of buffalo (*Bubalus bubalis*) semen. *J. Anim. Reprod. Sci.* 62:55-76.
- Senger, P. L. 1999. *Pathways to Pregnancy and Parturition*. Current Conception Inc., Pullman.

- Situmorang, P. 2002. The Effects of Inclusion of Exogenous Phospholipid In Tris-Diluent Containing A Different Level of Egg Yolk on the Viability of BullSpermatozoa. Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan dan Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Bogor 7 (3) : 131-187
- Suardi. 2002. Fisiologi Ternak. Andalas Press, Padang
- Sudarmono, A. S dan Y. B. Sugeng. 2008. Sapi Potong. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Sugeng, Y.B. 2006. Sapi Potong. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Susilawati, T. 2011. Spermatologi. Universitas Brawjya Press (UB Press), Malang.
- Susilorini, E. T. 2008. Budi Daya 22 Ternak Potensial. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Solihati, N., R. Idi., S.D. Rasad., M. Rizal., dan M. Fitriati. 2008. Kualitas Spermatozoa Cauda *Epididymis* Sapi Peranakan Ongol (PO) Dalam Pengencer Susu, Tris dan Sitrat Kuning Telur Pada Penyimpanan 4-5 °C. J. Anim. Prod. Vol. 10 No. 1 : 22-29.
- Steel, R. G. D., dan J. H. Torrie. 1991. Prinsip dan Prosedur Statistika. Alih Bahasa PT Gramedia, Jakarta (Diterjemahkan oleh B Sumantri), Jakarta.
- Tejowati, M. R. 1997. Pengaruh Pengenceran Kuning Telur-Sitrat Glukosa dan Susu Sapi Segar Serta Waktu Ekuilibrasi 2 dan 6 jam Terhadap Motilitas Spermatozoa Kambing Peranakan Etawah. Skripsi. Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Toelihere, M. R. 1997. Fisiologi Reproduksi Ternak. Penerbit Angkasa. Bandung.
- Toelihere, M. R. 1993. Inseminasi Buatan Pada Ternak. Penerbit Angkasa. Cetakan III. Bandung.
- Trelford, J. D, and mueller. F. 1969. Observation and Studies on the Stronge of human sperm. Canada. Med. Ass. J. 100-65
- Vale, W. G. 1994. Deep freezing buffalo semen state of art. Proc. 9th World Buffalo Congr. Argentine. Buenos Aires. 83-92.
- Wagelie, E. G., V. B. Patricia., and R. T. Rojas. 1982. Processing Technique and Storing of Murrah Buffalo Sement in Plastic Straw. Nat. Res. Count. Of The Phil. Reseach Bull: 37 (1): 153-164.

Lampiran 1. Analisis Statistik Pengaruh Perlakuan Terhadap Motilitas Spermatozoa

Kelompok	Perlakuan kecepatan penurunan suhu (°C/menit)				Jumlah
	Kontrol	15	20	25	
I	40	40	30	30	140
II	30	40	30	20	130
III	40	40	20	20	120
IV	40	40	30	20	130
Total	150	160	110	90	520
Rata-rata	37,5	40	27,5	22,5	127,5

$$FK = \frac{(520)^2}{16}$$

$$= 16256,25$$

$$JKP = \frac{(150)^2 + (160)^2 + (110)^2 + (90)^2}{4} - 16256,25$$

$$= 818,75$$

$$JKK = \frac{(140)^2 + \dots + (130)^2}{4} - 16256,25$$

$$= 68,75$$

$$JKT = (40)^2 + \dots + (20)^2 - 16256,25$$

$$= 156,25$$

$$JKS = JKT - JKK - JKP$$

$$= 1043,75 - 68,75 - 818,75$$

$$= 156,25$$

$$KTP = \frac{JKP}{3} = \frac{818,75}{3} = 272,91$$

$$KTK = \frac{JKK}{3} = \frac{68,75}{3} = 22,91$$

$$KTS = \frac{JKS}{9} = \frac{156,25}{9} = 17,36$$

$$F_{hit}(P) = \frac{KTP}{KTS} = \frac{272,91}{17,36} = 15,72$$

$$F_{hit}(K) = \frac{KTK}{KTS} = \frac{22,91}{17,36} = 1,32$$

Analisis Keragaman Rancangan Acak Kelompok

SK	Db	JK	KT	F.hitung	F tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	3	175	13,33	15,72**	3,86	6,99
Kelompok	3	50	16,66	1,32	3,8	6,99
Sisa	9	185	20,55			
Total	15	1043,75				

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata

Uji Jarak Berganda Duncan Multi Range Test (DMRT)

$$SE = \sqrt{\frac{KTS}{r}}$$

$$= \sqrt{\frac{17,36}{4}} = 2,08$$

$$LSR = SSR \cdot SE$$

Tabel SSR Signifikan 5% dan 1%

Perlakuan	SSR		SE	LSR	
	0,05	0,01		0,05	0,01
2	3,20	4,60	2,08	6,66	9,58
3	3,34	4,78		6,95	10,12
4	3,42	4,90		7,10	10,40

Urutan Rata-rata Perlakuan dari yang terbesar hingga yang terkecil.

P1	P0	P2	P3
40	37,5	27,5	22,5

Selisih Rata-rata perlakuan dan dibandingkan dengan Uji DMRT

Perlakuan	Selisih	LSR 5%	LSR 1%	Ket
P1 VS P0	2,5	6,66	9,95	ns
P1 VS P2	12,5	6,95	10,12	**
P1 VS P3	17,5	7,10	10,40	**
P0 VS P2	10	6,66	9,95	**
P0 VS P3	15	6,95	10,12	**
P2 VS P3	5	7,10	10,40	ns

Keterangan : * = Berbeda Nyata
 ** = Berbeda sangat Nyata
 ns = Berbeda Tidak Nyata

Superskrip :

P0 ^a

P1 ^a

P2 ^b

P3 ^b

Lampiran 2. Analisis Statistik Pengaruh Perlakuan Terhadap Persentase hidup Spermatozoa

Kelompok	Perlakuan kecepatan penurunan suhu (°C/menit)				Jumlah
	Kontrol	15	20	25	
I	44,00	54,00	36,00	30,00	164,00
II	42,12	48,57	32,00	30,50	153,19
III	42,57	44,00	42,18	39,32	168,07
IV	38,57	44,17	38,80	36,27	157,81
Total	167,26	190,74	148,98	136,09	643,07
Rata-rata	41,81	47,68	37,24	34,02	

$$FK = \frac{(643,07)^2}{16}$$

$$= 25846,18$$

$$JKK = \frac{(164)^2 + \dots + (157,81)^2}{4} - 25846,18$$

$$= 84836,70 - 25846,18$$

$$= 32,50$$

$$JKT = (44)^2 + \dots + (36,27)^2 - 25846,18$$

$$= 26468,40 - 25846,18$$

$$= 622,20$$

$$JKP = \frac{(167,26)^2 + \dots + (136,09)^2}{4} - 25846,18$$

$$= 91182,81 - 25846,18$$

$$= 422,10$$

$$JKS = JKT - JKP - JKK$$

$$= 622,20 - 422,10 - 32,49$$

$$= 167,61$$

$$KTP = \frac{JKP}{3} = \frac{140,70}{3} = 140,70$$

$$KTK = \frac{JKK}{3} = \frac{32,49}{3} = 10,83$$

$$KTS = \frac{JKS}{9} = \frac{167,61}{9} = 18,62$$

$$F_{hit}(P) = \frac{KTP}{KTS} = \frac{140,70}{18,62} = 7,55$$

$$F_{hit}(K) = \frac{KTK}{KTS} = \frac{10,83}{18,62} = 0,58$$

Analisis Keragaman Rancangan Acak Kelompok

SK	Db	JK	KT	F.hitung	F tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	3	422,10	140,70	7,53**	3,86	6,99
Kelompok	3	32,49	10,83	0,58	3,86	6,99
Sisa	9	167,61	18,62			
Total	15	622,20				

Keterangan : ** = Berbeda Sangat Nyata

Uji Jarak Berganda Duncan Multi Range Test (DMRT)

$$SE = \sqrt{\frac{KTS}{r}}$$

$$= \sqrt{\frac{18,62}{4}} = 2,16$$

$$LSR = SSR \cdot SE$$

Tabel SSR Signifikan 5% dan 1%

Perlakuan	SSR		SE	LSR	
	0,05	0,01		0,05	0,01
2	3,20	4,60	2,16	6,90	9,92
3	3,34	4,78		7,20	10,48
4	3,42	4,99		7,35	10,76

Urutan Rata-rata Perlakuan dari yang terbesar hingga yang terkecil

P1	P0	P2	P3
47,68	41,81	37,24	34,02

Selisih Rata-rata perlakuan dan dibandingkan dengan Uji DMRT

Perlakuan	Selisih	LSR 5%	LSR 1%	Ket
P1 VS P0	5,87	6,90	9,92	ns
P1 VS P2	10,26	7,20	10,48	*
P1 VS P3	13,66	7,35	10,76	**
P0 VS P2	4,39	6,90	9,92	ns
P0 VS P3	7,79	7,20	10,48	**
P2 VS P3	3,40	7,35	10,76	ns

Keterangan : * = Berbeda Nyata
 ** = Berbeda Sangat Nyata
 ns = Tidak Berbeda Nyata

Superskrip :

P0^{ab}

P1^a

P2^{bc}

P3^c

Lampiran 3. Analisis Statistik Pengaruh Perlakuan Terhadap Abnormalitas Spermatozoa

Kelompok	Perlakuan kecepatan penurunan suhu (°C/menit)				Jumlah
	Kontrol	15	20	25	
I	21,12	22,68	20,15	20,45	84,40
II	26,00	13,26	19,02	17,10	75,56
III	25,15	17,87	21,87	20,02	84,85
IV	22,57	16,86	15,18	23,00	77,61
Total	94,84	68,67	76,22	80,57	322,42
Rata-rata	23,71	17,16	19,05	20,14	

$$FK = \frac{(322,42)^2}{16}$$

$$= 6497,16$$

$$JKK = \frac{(84,4)^2 + \dots + (77,61)^2}{4} - 6497,16$$

$$= 6513,88 - 6497,16$$

$$= 17,30$$

$$JKT = (21,12)^2 + \dots + (23)^2 - 6497,16$$

$$= 6674,71 - 6497,16$$

$$= 182,38$$

$$JKP = \frac{(94,84)^2 + \dots + (80,57)^2}{4} - 6497,16$$

$$= 6502,80 - 6497,16$$

$$= 80,94$$

$$JKS = JKT - JKP - JKK$$

$$= 182,38 - 80,94 - 17,30$$

$$= 84,94$$

$$KTP = \frac{JKP}{3} = \frac{80,94}{3} = 26,71$$

$$KTK = \frac{JKK}{3} = \frac{182,38}{3} = 5,75$$

$$KTS = \frac{JKS}{15} = \frac{84,94}{15} = 9,43$$

$$F_{hit}(P) = \frac{KTP}{KTS} = \frac{26,71}{9,43} = 2,83$$

$$F_{hit}(K) = \frac{KTK}{KTS} = \frac{5,75}{9,43} = 0,61$$

Analisis Keragaman Rancangan Acak Kelompok

SK	Db	JK	KT	F.hitung	F tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	3	80,94	26,71	2,83*	3,86	6,99
Kelompok	3	17,30	5,75	0,61	3,86	6,99
Sisa	9	84,94	9,43			
Total	15	182,38				

Keterangan : * = Berbeda Nyata

Uji Jarak Berganda Duncan Multi Range Test (DMRT)

$$SE = \sqrt{\frac{KTS}{r}}$$

$$= \sqrt{\frac{18,2}{4}} = 1,54$$

$$LSR = SSR \cdot SE$$

Tabel SSR Signifikan 5% dan 1%

Perlakuan	SSR		SE	LSR	
	0,05	0,01		0,05	0,01
2	3,20	4,60	1,54	4,91	7,06
3	3,34	4,78		5,13	7,46
4	3,42	4,99		5,23	7,66

Urutan Rata-rata Perlakuan dari yang terbesar hingga yang terkecil

P0 23,71	P3 20,14	P2 19,05	P1 17,16
-------------	-------------	-------------	-------------

Selisih Rata-rata perlakuan dan dibandingkan dengan Uji DMRT

Perlakuan	Selisih	LSR 5%	LSR 1%	Ket
P0 VS P3	3,57	2,55	3,68	*
P0 VS P2	4,66	2,66	3,83	**
P0 VS P1	6,53	2,73	3,92	**
P3 VS P2	1,09	2,55	3,68	ns
P3 VS P1	2,98	2,66	3,83	*
P2 VS P1	1,89	2,73	3,92	ns

Keterangan : * = Berbeda Nyata
 ** = Berbeda Sangat Nyata
 ns = Tidak Berbeda Nyata

Superskrip :

P0 ^a

P1 ^b

P2 ^{ab}

P3 ^c

RIWAYAT HIDUP PENULIS



Penulis lahir di Duku Tarusan Pesisir Selatan pada tanggal 21 Oktober 1990. Merupakan anak ke tujuh dari delapan bersaudara dari Ayahanda Kaharuddin Rj. Alam (Benteng, 5 Agustus 1950) dan Ibunda Rosliana (Benteng, 31 Desember 1955).

Pada tahun 1997 mulai masuk Sekolah Dasar (SD) Negeri 22 Duku Koto XI Tarusan. Setelah lulus dari Sekolah Dasar pada tahun 2003 penulis melanjutkan pendidikan di Sekolah Menengah Pertama (SMP) Negeri 04 Duku Koto XI Tarusan. Pada Tahun 2006 penulis melanjutkan sekolah ke Sekolah Menengah Atas (SMA) Negeri 1 Koto XI Tarusan. Akhirnya Lulus SMA pada Tahun 2009 dan diterima di Fakultas Peternakan Universitas Andalas melalui jalur SNMPTN (Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri).

Selama di Universitas Andalas penulis aktif di berbagai organisasi kemahasiswaan (Sanggar Ungu Unit Kegiatan Seni Faterna, HMI Komisariat Peternakan dan HIPMI-PT UNAND) dan di Fakultas Peternakan aktif sebagai MC (*Master of Ceremonial*). Pada tanggal 4 Juni sampai 17 Juli 2012 penulis melaksanakan kuliah Kerja Nyata (KKN) di Jorong Sawah Kareh Kec. Rambatan Kabupaten Tanah Datar.

Penulis melaksanakan Farm Eksperience di Unit Pelayanan Teknis (UPT) Fakultas Peternakan Universitas Andalas pada tanggal 04 April 2013 sampai 17 Mei 2013. Kemudian penulis melaksanakan penelitian di Laboratorium Fisiologi Reproduksi Ternak dan Laboratorium Bioteknologi Ternak pada tanggal 21 Juli

2014 sampai dengan 02 September 2014, Dengan Judul “**Pengaruh Kecepatan Penurunan Suhu Selama Pembekuan Terhadap Kualitas Spermatozoa Beku *Cauda Epididymis* Sapi Peranakan Simmental.**”.

Padang, Februari 2015

Barkat Saputra