



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 DAN MEDIA PENGENCER TERHADAP KUALITAS SEMEN BEKU SAPI SIMENTAL

SKRIPSI



**MUHAMMAD YASIR
11106110962**

**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2015**

FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG

Kami dengan ini menyatakan bahwa Skripsi yang ditulis oleh:

MUHAMMAD YASIR
1110611062

**“PENGARUH KECEPATAN PENURUNAN SUHU DAN MEDIA
PENGECER TERHADAP KUALITAS SEMEN BEKU SAPI
SIMENTAL”**

Diterima sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Peternakan

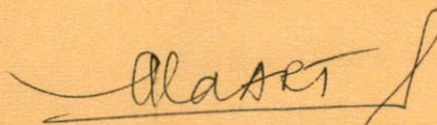
Menyetujui:

Pembimbing I



Prof. Dr. Ir. Zaituni Udin, M.Sc
NIP.195309071980032001

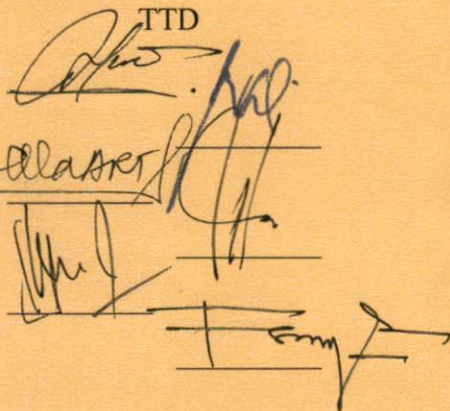
Pembimbing II



Prof. Dr. Ir. Salam N. Aritonang, MS
NIP.196103111985062001

Tim Penguji	Nama
Ketua	Prof. Dr. Ir. Zaituni Udin, M.Sc
Sekretaris	Dr. Rusfidra, S.Pt, MP
Anggota	Prof. Dr. Ir. Salam N. Aritonang, MS
Anggota	Dr. Ir. H. Hendri Dt. TNH, MS
Anggota	Dr. Ir. H. Jaswandi, MS
Anggota	Ferry Lismanto Syaiful, S.Pt, MP

TTD

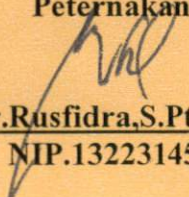


Mengetahui,



**Dekan Fakultas Peternakan
Universitas Andalas**
Dr. Ir. Jafrinur, MSP
NIP.196021551986031005

**Ketua Program Studi
Peternakan**



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

Tanggal Lulus : 19 Oktober 2015

PENGARUH KECEPATAN PENURUNAN SUHU DAN MEDIA PENGECER TERHADAP KUALITAS SEMEN BEKU SAPI SIMENTAL

MUHAMMAD YASIR, dibimbing oleh
Prof.Dr.Ir.Zaituni Udin.M.Sc dan Prof.Dr.Ir.Salam N.Aritonang.MS
Program Studi Peternakan Fakultas Peternakan
Universitas Andalas Padang, 2015

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui interaksi antara kecepatan penurunan suhu pembekuan dan media pengencer terhadap kualitas semen beku sapi Simental yang terdiri dari motilitas, persentase spermatozoa hidup, abnormalitas dan membran plasma utuh (MPU). Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) pola faktorial (2x3) dengan 3 kelompok, dengan faktor A sebagai media pengencer terdiri dari Sitrat-kuning telur (A1) dan Susu segar (A2), dan faktor B adalah kecepatan penurunan suhu pembekuan 5⁰C/menit (B1), 10⁰C/menit (B2), 15⁰C/menit (B3) serta 3 ekor sapi Simental yang ditampung semennya di Balai Inseminasi Buatan (BIB) Tuah Sakato, Payakumbuh. Untuk mengetahui pengaruh antar perlakuan digunakan uji lanjut *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT). Hasil penelitian pada perlakuan media pengencer Sitrat-kuning telur (A1) dan kecepatan penurunan suhu pembekuan 10⁰C/menit (B2) menunjukkan hasil terbaik dengan rata-rata motilitas 54,01% rata-rata persentase hidup spermatozoa 59,67%, rata-rata abnormalitas spermatozoa 13,67% rata-rata MPU 53,17%. Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa terdapat interaksi berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) antara dua media pengencer dengan tiga kecepatan penurunan suhu pembekuan terhadap rata-rata motilitas spermatozoa sesudah thawing, persentase spermatozoa hidup, dan membran plasma utuh dan berbeda tidak nyata ($P > 0,05$) terhadap abnormalitas spermatozoa setelah pembekuan. Penelitian ini dapat disimpulkan bahwa media pengencer sitrat-kuning telur dengan kecepatan penurunan suhu pembekuan 10⁰C/menit menghasilkan motilitas, persentase hidup, abnormalitas dan membran plasma utuh spermatozoa yang terbaik.

Kata kunci : semen, sapi Simental, penurunan suhu pembekuan, media pengencer.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur penulis ucapkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan kurnia-Nya yang tak terhingga, sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi ini dengan judul **“Pengaruh Kecepatan Penurunan Suhu dan Media Pengencer Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Simental”**.

Dalam pembuatan skripsi ini penulis tidak terlepas dari bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak. Penulis mengucapkan beribu-ribu terima kasih kepada Ayahanda Arifin dan Ibunda Gusniar yang telah memelihara, mengasuh, dan senantiasa bersabar dalam mendidik serta membimbing ananda dengan kasih sayangnya. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ibu Prof.Dr.Ir.Zaituni Udin.,MSc selaku pembimbing I dan Ibu Prof.Dr.Ir.Salam.N.Aritonang, MS selaku pembimbing II juga sebagai Pembimbing Akademis yang telah memberikan masukan dan saran dalam menyelesaikan penyusunan skripsi ini. Ucapan terima kasih juga penulis ucapkan kepada Bapak Dekan Fakultas Peternakan, dosen penguji Bapak Dr.Ir.H.Hendri Dt.Tumannung NH,MS, Bapak Dr.Ir.H.Jaswandi,MS, Bapak Ferry Lismanto Syaipul,S.Pt.MP, juga pada Bapak Dr.Rusfidra,S.pt,MP sebagai sekretaris ujian yang telah memberikan masukan dan saran kepada penulis demi kesempurnaan skripsi ini, serta semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan Skripsi ini.

Ucapan terima kasih juga kepada saudara-saudara kandung Edrinal, Dodi Harmel, Hari Rahma Donal, Dede Marwan serta adik perempuan kecilku Indah Wahyuni yang telah memberikan semangat dan motivasi dalam menyelesaikan tugas ini. Juga pada sahabat-sahabat sepermainan di Universitas Andalas dan

kepada kakanda, kawan-kawan, adik-adik di Unit Kegiatan Olahraga Universitas Andalas (Uko Unand) yang telah memberikan kesempatan menimba ilmu di sela-sela waktu luang sehingga banyak pengalaman dan prestasi yang saya dapatkan selama kuliah di Universitas Andalas ini, Bapak dan Ibu teknisi Laboratorium Balai Inseminasi Buatan Tuah Sakato Payakumbuh yang banyak membantu penulis dalam melakukan penelitian serta teman-teman penelitian Linda Suhartati, Harnida Sagita, dan Anna Farhana.

Penulis menyadari bahwa Skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan sehingga, kritik dan saran yang sifatnya membangun demi kesempurnaan Skripsi ini sangat penulis harapkan. Semoga Skripsi ini bermanfaat bagi semua pihak.

Padang, Oktober 2015

Muhammad Yasir

DAFTAR ISI

	Hal
ABSTRAK.....	i
KATA PENGANTAR	ii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR LAMPIRAN.....	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 Simental.....	5
B. Semen	6
C. Semen Cair.....	7
D. Kualitas Semen.....	8
1. Volume	8
2. Warna	9
3. Bau	9
4. PH	10
5. Konsistensi	10
6. Konsentrasi	11
7. Motilitas Spermatozoa.....	11
8. Abnormalitas.....	14
9. Membran Plasma Utuh.....	15
10. Spermatozoa Hidup.....	15

E. Pengeceran Semen	17
1. Media Pengencer Na-Sitrat dan Kuning Telur	18
2. Pengencer Susu Segar	19
3. Media Pengencer Gliserol.....	19
F. Ekuilibrasi.....	19
G. Semen Beku.....	20
F. Thawing.....	21
III. MATERI DAN METODE PENELITIAN	22
A. Materi Penelitian	22
B. Metode Penelitian	23
C. Variabel yang Diukur	29
D. Tempat Dan Waktu Penelitian	31
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	32
A. Kualitas Semen Segar Sapi Simental sebelum Perlakuan.....	32
B. Hasil Penilaian Kualitas Spermatozoa setelah Perlakuan	39
1. Motilitas Spermatozoa sesudah Thawing.....	39
2. Persentase Spermatozoa Hidup.....	44
3. Abnormalitas Spermatozoa.....	48
4. Membran Plasma Utuh Spermatozoa.....	52
V. KESIMPILAN DAN SARAN.....	58
1. Kesimpulan.....	58
2. Saran.....	58
DAFTAR PUSTAKA.....	59

DAFTAR TABEL

Tabel	Teks	Hal
1.	Persentase gerakan individual spermatozoa.....	12
2.	Komposisi Bahan pengencer Sitrat-Kuning telur.....	24
3.	Komposisi Bahan Pengencer Susu Segar.....	25
4.	Hasil evaluasi Semen segar sapi Simental.....	32
5.	Rataan Persentase Motilitas Spermatozoa dari Dua Media Pengencer dengan Kecepatan Penurunan Suhu Pembekuan terhadap Semen Beku pada Sapi Simental	39
6.	Rataan Persentase Spermatozoa Hidup dari Dua Media Pengencer dengan Tiga Kecepatan Penurunan Suhu Pembekuan terhadap Semen Beku Sapi Simental	44
7.	Rataan Abnormalitas Spermatozoa dari Dua Media Pengencer dengan Tiga Kecepatan Penurunan Suhu Pembekuan Semen terhadap Semen Beku Sapi Simental	49
8.	Rataan Membran Plasma Utuh Spermatozoa pada Dua Media Pengencer dengan Tiga Kecepatan Penurunan Suhu Pembekuan terhadap Semen Beku pada Sapi Simental	53

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Teks	Hal
1.	Rataan persentase motilitas pada dua macam media pengencer dengan tiga kecepatan penurunan suhu pembekuan pada semen sapi Simental....	40
2.	Rataan persentase spermatozoa hidup pada dua macam media pengencer dengan tiga kecepatan penurunan suhu pembekuan pada semen sapi Simental	44
3.	Rataan persentase abnormalitas spermatozoa dua jenis media pengencer dengan tiga kecepatan penurunan suhu pembekuan pada semen sapi Simental	49
4.	Rataan persentase membran plasma utuh spermatozoa pada dua media pengencer dengan tiga kecepatan penurunan suhu pembekuan pada semen sapi Simental	53

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Teks	Hal
1.	Hasil evaluasi Semen Segar Sapi Simental.....	62
2.	Uji Statistik Motilitas Semen Beku Sapi Simental.....	63
3.	Uji Statistik Persentase Hidup Semen Beku Sapi Simental.....	66
4.	Uji Statistik Abnormalitas Semen Beku Sapi Simental.....	69
5.	Uji Statistik Membran Plasma Utuh Semen Beku Sapi Simental.....	72
6.	Dokumentasi penelitian.....	75
7.	Grafik kecepatan penurunan suhu 5°C/menit.....	77
8.	Grafik kecepatan penurunan suhu 10°C/menit.....	78
9.	Grafik kecepatan penurunan suhu 15°C/menit.....	79

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Sapi Simental adalah salah satu bangsa sapi potong yang mempunyai pertumbuhan cepat. Sapi jenis ini merupakan sapi triguna, yaitu sapi yang menghasilkan susu daging dan tenaga (Yulianto dan Suprianto, 2010). Sapi Simental betina dapat mencapai berat badan 800 kg, sedangkan sapi Simental jantan dapat mencapai berat sekitar 1150 kg. Atas dasar keunggulan tersebut, rata-rata peternak yang ada di Indonesia lebih suka memelihara Sapi Simental untuk memenuhi tingginya kebutuhan daging sapi untuk masyarakat.

Bibit Sapi Simental yang unggul dapat diperoleh dengan melakukan program pemuliaan ternak melalui Inseminasi Buatan (IB). Teknologi IB dapat mempercepat perkembangan populasi dan meningkatkan mutu genetik ternak (Toelihere, 1993). Penerapan teknologi ini juga lebih efisien dibandingkan perkawinan secara alami sehingga semen atau spermatozoa yang dihasilkan oleh seekor pejantan unggul dalam satu kali ejakulasi dapat digunakan untuk melayani lebih banyak betina setelah semen tersebut diproses menjadi semen beku.

Semen beku itu sendiri berasal dari pejantan sapi terpilih yang telah melalui proses pengenceran sesuai prosedur produksi sehingga menjadi semen beku dan disimpan di dalam nitrogen cair pada suhu -196°C di dalam container (Herdiawan, 2004). Semen beku yang berkualitas baik mempunyai persentase motilitas dan spermatozoa hidup yang tinggi. Namun pada kondisi ini masih terdapat banyak faktor yang menurunkan kualitas semen diantaranya pada proses pengenceran dan kecepatan penurunan suhu saat proses pembekuan semen.

Masalah yang sering menyebabkan penurunan kualitas semen adalah pada proses pembekuan semen. Semen akan mengalami penurunan kualitas sekitar 10 – 40% pada saat pembekuan (Parrish, 2003). Suhu merupakan faktor yang harus diperhatikan pada saat pengenceran dan pendinginan sebelum semen dibekukan. Hal ini disebabkan semen sangat rentan terhadap cekaman dingin (*cold shock*), yaitu penurunan suhu semen secara cepat. *Cold shock* dapat membuat spermatozoa kehilangan daya hidupnya dan tidak dapat dipulihkan kembali (Toelihere,1993).

Derajat kecepatan penurunan suhu untuk mempertahankan fertilitas spermatozoa belum diketahui dengan pasti. Berbagai percobaan telah dikemukakan, misalnya penurunan suhu normal secara cepat dalam waktu 2 menit dari -15°C ke -25°C , pendinginan dari 5°C ke -45°C dengan kecepatan 1° sampai 4°C per menit. Kecepatan penurunan suhu normal yang sering digunakan saat pembekuan yaitu 1°C per menit dari 5°C ke 15°C (Toelihere,1993).

Berbagai media pengencer memberikan kualitas semen beku yang berbeda. Media pengencer untuk semen beku harus mengandung zat yang dapat melindungi spermatozoa. Media pengencer yang sering digunakan untuk pengenceran semen beku diantaranya Sitrat- kuning telur dan susu segar serta gliserol. Media pengencer ini sangat banyak digunakan di berbagai balai Inseminasi Buatan yang ada di seluruh Indonesia.

Pengencer sitrat kuning telur memiliki komponen-komponen zat yang dibutuhkan oleh spermatozoa dalam proses metabolismenya selain dalam melindungi bagian luar sel. Keunggulan zat-zat yang terkandung dalam media pengencer ini yaitu asam sitrat, fruktosa, dan air yang memiliki spesifikasi sebagai

pengecegah perubahan pH, menjaga tekanan osmotik, keseimbangan elektrolit sel, mengikat butir-butir lemak, sumber energi, serta melindungi sel dari *cold shock* (Salisbury dan Vandemark, 1985). Penambahan kuning telur akan melengkapi fungsinya dalam melindungi dan mempertahankan sel spermatozoa pada saat perubahan suhu pembekuan (Bearden dan Fuquay, 1984), sehingga lebih mampu mempertahankan daya hidup spermatozoa sapi Simental setelah pengenceran hingga 4,6 hari penyimpanan pada suhu 3-5°C (Solihati dan Petrus, 2011).

Media pengencer susu sapi segar mengandung protein dan glukosa yang berperan sebagai nutrisi bagi spermatozoa, serta mengandung butir-butir lemak yang dapat mengikat sel spermatozoa sehingga dapat menghambat daya gerak spermatozoa yang menyebabkan energi terpakai untuk bergerak tidak banyak dan dapat bertahan lama. Di samping itu susu sapi segar mempunyai sifat *amphoteric* yang artinya bersifat asam dan basa sekaligus sehingga dapat dicampur langsung dengan semen (Gazali dkk, 2002), sehingga mampu mempertahankan kualitas spermatozoa cair selama 4,00 hari setelah pengenceran penyimpanan pada suhu 3-5°C (Solihati dan Petrus, 2011). Keunggulan lain dari susu sapi segar yaitu mengandung substansi pelindung lesitin yang berfungsi melindungi spermatozoa dari *cold shock* (Teolihere, 1993).

Berdasarkan uraian panjang di atas mendukung penulis untuk melakukan penelitian mengenai ***“Pengaruh Kecepatan Penurunan Suhu dan Media Pengencer Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Simental “***.

B. Perumusan Masalah

Adapun perumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Bagaimana pengaruh kecepatan penurunan suhu dan media pengencer semen terhadap kualitas semen beku sapi Simental?
2. Bagaimana interaksi antara penurunan suhu dan media pengencer terhadap kualitas semen beku sapi Simental?

C. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh kecepatan penurunan suhu pada berbagai media pengencer terhadap kualitas semen beku Sapi Simental.
2. Untuk mengetahui interaksi antara kecepatan penurunan suhu pembekuan dan media Pengencer.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi terbaru kepada petugas laboratorium semen beku di berbagai Balai Inseminasi Buatan untuk menjadi pedoman proses penurunan suhu yang tepat dalam pengelolaan semen yang baik. Teridentifikasinya waktu yang terbaik dalam proses pembekuan semen sehingga dapat memperkecil penurunan kualitas semen.

E. Hipotesis Penelitian

Hipotesis pada penelitian ini adalah kecepatan penurunan suhu pada berbagai media pengencer dapat meningkatkan kualitas semen beku sapi Simental.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A Sapi Simental

Sapi Simental adalah bangsa *Bos taurus* yang berasal dari daerah Simme di Switzerland tetapi sekarang perkembangannya lebih cepat di benua Eropa dan benua Amerika. Sapi Simental merupakan tipe sapi triguna yaitu perah, pedaging dan tenaga (Yulianto dan Suprianto, 2010). Sapi Simental mempunyai sifat jinak, tenang, dan mudah dikendalikan. Sapi Simental memiliki badan panjang dan padat, serta dapat menyusui anaknya dengan baik, berukuran besar, baik pada kelahiran, penyapihan maupun saat mencapai dewasa Berat sapih Sapi Simental cukup tinggi demikian pula penambahan berat badan setelah sapih (Blakely dan Bade, 1991).

Sapi Simental memiliki ciri-ciri bulu berwarna coklat kemerahan (merah bata), bagian muka dan lutut ke bawah serta ujung ekor berwarna putih, ukuran tubuh besar, pertumbuhan otot bagus, penimbunan lemak di bawah kulit rendah dan ukuran tanduk kecil. Sapi jantan dewasa mampu mencapai berat badan 1150 kg dan betina dewasa mencapai 800 kg. Sapi Simental memiliki persentase karkas yang tinggi. Sapi jenis ini sangat cocok dipelihara di daerah beriklim sedang (Talib dan Siregar, 1999).

Sapi Simental mempunyai klasifikasi taksonomi (Talib dan Siregar, 1999) yaitu:

Filum : Chordata (hewan yang memiliki tulang belakang).

Kelas : Mamalia (hewan yang menyusui).

Ordo : Artiodaktili (hewan berkuku).

Sub ordo : Ruminansia (memamah biak).

Family : Bovidae (bertanduk).

Genus : Bos (memamah biak berkaki empat).

Spesies : Bos Taurus (golongan sapi Eropa).

B. Semen

Semen adalah sekresi kelamin jantan yang diejakulasikan ke dalam saluran kelamin betina sewaktu kopulasi. Semen terdiri dari spermatozoa yang berada dalam cairan yang disebut plasma semen (Salisbury dan Vandermark, 1985). Semen merupakan cairan yang terdiri dari hasil sekresi kelenjar kelamin aksesoris dan spermatozoa yang sudah masak dari epididimis seekor sapi pejantan dewasa. Semen terdiri atas campuran spermatozoa yang dihasilkan oleh jaringan testis di dalam tubulus seminiferus dan plasma semen yang berasal dari kelenjar kelamin pelengkap (Supriatna dan Fachriyan, 1992).

Spermatozoa normal memiliki bagian-bagian yang terdiri atas kepala, leher, badan, dan ekor. Sekitar 2/3 bagian dari dinding depan kepala spermatozoa tampak tertutup oleh akrosom. Tempat sambungan dasar akrosom dan kepala disebut cincin nukleus. Diantara kepala dan badan terdapat sambungan pendek yaitu leher yang berisi sentriol proksimal, terkadang dinyatakan sebagai pusat kinetik aktifitas spermatozoa. Bagian badan dimulai dari leher dan berlanjut ke cincin sentriol. Bagian badan dan ekor mampu bergerak bebas meskipun tanpa kepala. Ekor yang menyerupai cambuk membantu mendorong spermatozoa untuk bergerak maju (Salisbury dan Vandemark, 1985).

Plasma semen merupakan sekresi dari epididimis, *vas deferens*, kelenjar prostat, dan vesika seminalis, serta kelenjar *cowper*, sehingga seminal plasma sangat berpengaruh terhadap sifat fisik dan kimia semen. Di dalam plasma semen terdapat berbagai macam zat organik, zat inorganik, dan air. Zat organik tersebut seperti *phosphorylcholine*, *glycerylphosphorylcholine*, asam sitrat, fruktosa, inositol, sorbitol, *ergothionine*, dan *spremine*. Zat inorganik meliputi kalium, kalsium, dan bikarbonat yang relatif tinggi kadarnya dibandingkan dengan yang terdapat dalam tubuh (Partodihardjo, 1992). Plasma semen berguna sebagai *buffer* dan media bagi spermatozoa agar dapat bertahan lama setelah ejakulasi (Toelihere, 1993).

C. Semen Cair

Semen cair adalah semen yang telah diencerkan dengan bahan pengencer yang sesuai dan dapat disimpan untuk 3-4 hari pada temperatur 3-5⁰ C, Tujuan Pembuatan Semen Cair ini adalah untuk memperpanjang masa penggunaan (Herdiawan, 2004). Media pengencer yang sering di gunakan untuk pengolahan semen cair adalah Phosfhat-kuning telur atau sitrat kuning telur dan susu segar. Pada umumnya semua pengencer ditambahkan antibiotik dengan dosis 500-1000 ml untuk penicilin dan 0,5 mg untuk streptomisin. Pada semen cair jumlah sperma yang mati lebih sedikit yaitu kurang dari 10% bila dibandingkan dengan semen beku adanya stress dingin dan pada waktu thawing (Partodihardjo, 1992). Semen cair biasanya tersedia dalam botol kecil atau viral yang terdiri dari beberapa dosis. Pada Negara Maju semen cair tersedia dalam bentuk Straw (Arifiantini dkk, 2007).

D. Kualitas Semen

Parameter yang digunakan untuk menilai kualitas semen secara umum meliputi: volume, warna, bau, pH, konsistensi, konsentrasi, motilitas, abnormalitas, membrane plasma utuh dan presentase hidup (Toelihere, 1993).

1. Volume

Volume merupakan satu standar minimal untuk melakukan evaluasi kualitas semen yang akan digunakan untuk Inseminasi Buatan (Garner dan Hafez, 2000). Volume semen bisa diketahui dengan membaca skala yang terdapat pada tabung penampungan. Volume semen perezakulat berbeda berdasarkan bangsa, umur, berat badan, tingkatan makanan, dan frekuensi penampungan. Volume semen akan menurun sesudah mencapai puncak dewasa (Toelihere, 1993). Garner dan Hafez (2000) menyatakan bahwa volume semen sapi berkisar antara 5 – 8 ml/ejakulasi. Toelihere (1993) menambahkan bahwa volume semen sapi jantan berkisar 1 – 15 ml. Menurut Salisbury dan Vandermark (1985), volume semen yang dihasilkan sapi jantan muda sekitar 1 – 2 ml atau lebih rendah dari itu, sedangkan sapi jantan yang telah dewasa dapat menghasilkan semen lebih banyak yaitu 10 – 15 ml tiap ejakulasi. Frekuensi ejakulasi sering menyebabkan penurunan volume dan apabila dua ejakulat diperoleh berturut-turut dalam waktu singkat maka umumnya ejakulat yang kedua mempunyai volume yang lebih rendah. Volume semen yang rendah tidak merugikan tetapi apabila disertai dengan konsentrasi yang rendah pula maka akan membatasi jumlah spermatozoa yang tersedia (Feradis, 2010).

2. Warna

Semen sapi normal berwarna seperti susu atau krem keputih-putihan dan keruh. Derajat kekeruhannya tergantung pada konsentrasi spermatozoa. Sekitar 10% sapi-sapi jantan menghasilkan semen yang normal berwarna kekuning-kuningan yang disebabkan oleh pigmen *riboflavin* yang dibawakan oleh satu gen autosom resesif dan tidak mempunyai pengaruh terhadap fertilitas (Tambing dkk, 2001). Adanya kuman-kuman *Pseudomonas aeruginosa* di dalam semen sapi dapat menyebabkan warna hijau kekuning-kuningan apabila semen dibiarkan pada suhu kamar. Gumpalan-gumpalan beku dan kepingan-kepingan di dalam semen menunjukkan adanya nanah yang umumnya berasal dari kelenjar-kelenjar pelengkap dari ampula. Semen yang berwarna gelap sampai merah muda menandakan adanya darah segar dalam jumlah yang berbeda dan berasal dari saluran kelamin uretra atau penis. Warna kecoklatan menunjukkan adanya darah yang telah mengalami dekomposisi. Warna coklat muda atau warna kehijau-hijauan menunjukkan kemungkinan adanya kontaminasi dengan feses (Toelihere, 1993).

3. Bau

Umumnya bau semen dikategorikan sebagai bau khas (Prasetyo, 2013). Hal ini juga dikemukakan oleh Arifiantini, (2012) bahwa bau semen normal adalah bau amis atau anyir. Bau semen dapat dinilai dengan mengibaskan tangan di atas tabung penampung semen. Bau semen banyak dipengaruhi oleh bau cairan dari kalenjer pelengkap, sehingga menyebabkan bau yang khas pada semennya (Hardijanto dkk, 2008).

4. PH

Nilai pH dapat dilihat dengan cara mencocokkan warna dari kertas lakmus yang telah ditetesi semen dengan warna pada tabung kemasan kertas lakmus (Garner dan Hafez, 2000). Pada umumnya spermatozoa sangat aktif dan tahan hidup lama pada pH sekitar 7,0. Motilitas partial dapat dipertahankan pada pH antara 5 sampai 10 (Toelihere, 1993). Setiap bangsa sapi mempunyai nilai pH semen segar yang berbeda-beda. Menurut Peraturan Direktur Jendral Peternakan nomor 12207/hk.060/f/12/2007, pH semen segar yang digunakan sebagai semen beku berkisar antara 6,2 – 6,8. Menurut Garner dan Hafez (2000) pH semen segar adalah 6,4 – 7,8.

5. Konsistensi

Konsistensi atau derajat kekentalan dapat diperiksa dengan menggoyangkan tabung berisi semen secara perlahan-lahan (Feradis, 2010). Warna, konsistensi dan konsentrasi berkaitan satu sama lainnya. Bila warna semakin pudar, maka konsentrasi spermatozoa semakin menurun dan semen akan semakin encer (Mahmilia dkk, 2006).

Semen sapi mempunyai konsistensi kental krem. Pada sapi, semen dengan konsistensi kental krem mempunyai konsentrasi 1000 – 2000 juta atau lebih sel/ml, konsistensi seperti susu encer memiliki konsentrasi 500 – 600 juta sel/ml, semen yang cair berawan atau hanya sedikit kekeruhan konsentrasinya sekitar 100 juta sel/ml dan yang jernih seperti air kurang dari 50 juta sel/ml (Toelihere, 1993).

6. Konsentrasi

Penilaian konsentrasi sangat penting karena faktor inilah yang menggambarkan sifat-sifat semen dan dipakai sebagai salah satu kriteria penentuan kualitas semen (Toelihere, 1993). Jumlah sel spermatozoa setiap unit volume semen sapi bervariasi dari nol sampai tiga miliar (3000×10^6) sel spermatozoa setiap ml. Konsentrasi spermatozoa yang berderajat tinggi biasanya berkisar dari 2000×10^6 sampai 2200×10^6 sel spermatozoa (Salisbury dan Vandemark, 1985). Konsentrasi digabung dengan volume dan persentase spermatozoa motil memberikan jumlah spermatozoa motil perejakulasi, yaitu kuantitas yang menentukan berapa betina yang dapat diinseminasi dengan ejakulat (Feradis, 2010).

7. Motilitas spermatozoa

Adapun parameter motilitas menurut Susilawati (2011) yaitu: Persentase spermatozoa yang motil dalam keadaan normal adalah 70-90 motil. Persentase spermatozoa yang bergerak progresif. Kecepatan spermatozoa (velocity) dengan dasar skala 1-2 (cepat). Umur spermatozoa (longevity) semen segar dengan suhu ruang ($20-25^\circ\text{C}$), sedangkan semen yang diencerkan dapat menggunakan suhu ruang atau refrigerator $4-6^\circ\text{C}$.

Motilitas massa spermatozoa mempunyai kecenderungan untuk bergerak secara bersama-sama ke satu arah yang menyerupai gelombang-gelombang yang tebal dan tipis. Motilitas massa diamati dengan menggunakan mikroskop tanpa cover glass dengan perbesaran 400 x atau 100 x pada suhu yang dijaga konstan 37°C .

Kriteria penilaian gerak massa spermatozoa antara lain:

- (1) Sangat baik (+++), terlihat adanya gelombang besar, banyak, gelap, tebal, dan aktif seperti gumpalan awan hitam saat hujan yang bergerak cepat berpindah-pindah.
- (2) Baik (++), terlihat adanya gelombang-gelombang kecil, tipis, jarang, kurang jelas dan bergerak lambat.
- (3) Lumayan (+), jika tidak terlihat adanya gelombang melainkan hanya gerakan-gerakan individual aktif progresif.
- (4) Buruk (N, necrospermia atau 0), bila hanya sedikit atau tidak ada gerakan-gerakan individual.

Motilitas individu spermatozoa umumnya digunakan sebagai parameter kesanggupan spermatozoa untuk membuahi sel telur (Toelihere, 1993). Sesuai dengan bentuk morfologinya, spermatozoa hidup dapat mendorong dirinya sendiri maju ke depan di dalam lingkungan zat cair. Motilitas spermatozoa dipengaruhi oleh kemampuan metabolisme spermatozoa yang ditunjang oleh lingkungan yaitu suhu dan komponen-komponen di dalam media pengencer (Toelihere, 1993).

Tipe gerak spermatozoa secara individual :

1. Gerakan maju yang sangat cepat pada spermatozoa yang baru diejakulasikan.
2. Gerakan maju yang lebih pelan (gerakan kepala menyerupai baling-baling pada sumbu longitudinal) di dalam cairan.
3. Sampai gerakan minimum yang ditandai dengan gerakan sangat lemah dan terkadang tampak ayunan ekor tanpa berpindah tempat .

Berdasarkan kategori-kategori dari pernyataan di atas, maka diperoleh persentase tipe gerak spermatozoa seperti tampak pada Tabel 1

Tabel 1. Persentase Gerakan Individual Spermatozoa

No.	Tipe gerak Sperma	Persentase
1	Spermatozoa tidak bergerak	0%
2	Gerakan berputar ditempat, pergerakan progresif	0-30%
3	Gerakan berayun, pergerakan progresif	30-50%
4	Ada gerakan massa, pergerakan progresif	50-80%
5	Ada gelombang, pergerakan progresif	80-90%
6	Gelombang pergerakan sangat progresif	90 – 100%

Sumber : Toelihere (1993)

Persentase motilitas spermatozoa sapi dibawah 40% menunjukkan nilai semen yang kurang baik dan sering berhubungan dengan infertilitas. Umumnya pejantan yang fertil mempunyai 50 – 80% spermatozoa yang motil aktif progresif (Toelihere, 1993).

Menurut Toelihere (1993) bahwa pemeriksaan motilitas spermatozoa merupakan satu-satunya cara penentuan kualitas semen sesudah pengenceran. Penilaian gerakan individual spermatozoa yang terbaik dilakukan dengan melihat pola pergerakan progresif atau gerakan aktif maju ke depan. Gerakan melingkar atau gerakan mundur merupakan tanda bahwa spermatozoa mengalami *cold shock*. Gerakan berayun dan berputar-putar di tempat biasanya terlihat pada semen yang sudah tua dan apabila kebanyakan spermatozoa berhenti bergerak dan dianggap mati.

Motilitas spermatozoa pada pemeriksaan 15 mikroskopis minimal 70%. Syarat minimal spermatozoa yang motil progresif setelah pengenceran adalah 55%. Pada pengujian *post thawing motility*, spermatozoa sapi yang motil

progresif minimal 40% dan gerak maju individu spermatozoa minimal dua (Susilawati, 2011).

Daya gerak spermatozoa sangat penting karena diperlukan untuk bergerak maju dalam saluran kelamin betina yang selanjutnya membuahi ovum (Toelihere, 1993). Susilawati,dkk (2003) menyatakan bahwa proses fertilisasi membutuhkan spermatozoa motil sekitar sepuluh juta sel, maka syarat spermatozoa sebagai standar inseminasi adalah $2,5 \times 10^7$ sel spermatozoa/*straw* dengan motilitas sebesar 40%. Menurut Garner dan Hafez (2000) bahwa syarat minimal motilitas individu spermatozoa *post thawing* agar dapat digunakan dalam IB adalah 40%.

8. Abnormalitas

Abnormalitas spermatozoa dapat dibedakan menjadi 3 yaitu, abnormalitas primer, sekunder dan tersier. Abnormalitas primer berhubungan dengan kepala dan akrosom. Abnormalitas sekunder terjadi ketika adanya *sitoplasmic droplet midpiece* pada ekor. Abnormalitas tersier adalah kelainan pada ekor menggulung. persentase spermatozoa yang akromosomnya adalah penting untuk uji kualitas spermatozoa (Susilawati, 2011). Biasanya semakin meningkat jumlah spermatozoa yang abnormal di dalam semen semakin rendah kesuburan semen ternak tersebut. Spermatozoa yang cacat, walaupun dapat membuahi sel telur, namun biasanya dapat berakhir dengan kematian anak sebelum lahir (Toelihere, 1993). Bentuk-bentuk spermatozoa abnormal biasanya tidak berekor, ekor menggulung, lehernya patah, dan kepala atau ekor ganda (Toelihere, 1993). Oleh karena itu dianjurkan untuk tidak memakai semen dari ejakulasi-ejakulasi awal setelah masa istirahat, karena mempunyai kesuburan yang rendah, sehingga

spermatozoa yang demikian akan menghasilkan angka kebuntingan yang rendah (Hardijanto dkk, 2008).

9. Membran Plasma Utuh

Membran Plasma utuh mutlak harus dimiliki oleh spermatozoa agar dapat memfertilisasi oosit, selain berfungsi melindungi secara fisik organel sel, membran plasma juga mengatur keluar masuknya zat-zat makanan serta keseimbangan elektrolit intra dan ekstraseluler. Apabila membran plasma rusak maka proses metabolisme sel akan terganggu dan spermatozoa mati (Toelihere,1993). Membran plasma utuh merupakan lapisan melindungi sel, dan bersifat selektif permeabel yang hanya dapat ditembus lebih mudah oleh substansi tertentu. Peran membran plasma utuh itu sendiri adalah sebagai pembatas organel yang mampu memberikan lingkungan yang berbeda dalam sel sehingga metabolisme yang berlawanan reaksi dapat dihindari (Gazali dkk, 2002).

Membran plasma utuh terdiri dari molekul-molekul yang terdiri dari lipid, protein dan sedikit karbohidrat dan membentuk lapisan yang bersifat dinamis karena mempunyai struktur zat fluida (zat cair) sehingga molekul lipid dan protein dapat bergerak serta bersifat asimetrik karena komposisi lipid dan protein sisi luar tidak sama dengan di luar membran plasma (Partodihardjo, 1992).

10. Spermatozoa hidup

Menurut Salisbury and Vandemark (1985) menyatakan bahwa persentase hidup spermatozoa dapat dihitung dengan melihat reaksi spermatozoa terhadap zat warna tertentu. Spermatozoa yang hidup tidak berwarna sedangkan

spermatozoa yang mati akan menyerap warna. Zat warna eosin tidak dapat menyusup ke dalam sel spermatozoa hidup karena membran plasmanya masih utuh dan tidak mengalami kerusakan. Menurut Partodihardjo (1992) bahwa sel-sel spermatozoa yang hidup akan sedikit sekali menghisap warna sedangkan sel-sel yang mati akan mengambil warna karena permeabilitas dinding sel menjadi lebih tinggi setelah mati.

Persentase spermatozoa hidup akan selalu lebih tinggi dari pada motilitas spermatozoa (Bearden and Fuquay, 2000). Susilawati (2011) mengatakan bahwa kadang-kadang spermatozoa yang masih hidup akan mengambil sebagian zat warna dari ekor sampai setengah badan. Pengambilan zat warna oleh spermatozoa dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor lain seperti sekresi kelenjar aksesoris, pH, suhu, kesalahan teknik pada waktu pembuatan preparat dan umur semen sesudah pengambilan semen.

Menurut Partodiharjo (1992) bahwa spermatozoa yang tidak bergerak belum tentu mati sehingga tidak menghisap warna, sedangkan pada penafsiran dengan dasar bergerak dan tidak bergerak dianggap *immotil*. Spermatozoa yang hidup dan tidak bergerak, diiringi *defect* pada dinding selnya dapat menghisap warna sehingga di bawah mikroskop dianggap mati, sedangkan penafsiran yang lain dianggap hidup.

Suhu yang rendah akan mengakibatkan bocornya substansi vital dalam spermatozoa sehingga enzim intraseluler, lipoprotein, ATP, kalium intraseluler dan lemak berfosfor berkurang dan menyebabkan kerusakan membran plasma. Matinya spermatozoa disebabkan berkurangnya cadangan makanan dan tidak

seimbangnya elektrolit larutan akibat metabolisme spermatozoa (Kusumawati dkk, 2014).

E. Pengenceran Semen

Salisbury dan Van Denmark (1985) menyatakan bahwa pengenceran semen memungkinkan IB sapi betina lebih banyak dan mempertahankan daya fertilisasi sebelum semen disemprotkan ke dalam alat kelamin betina waktu birahi. Menurut Lindsay, dkk (1982) Pengenceran semen berfungsi untuk memperbanyak volume semen, memberi media yang cocok untuk spermatozoa, menjaga pH, tekanan osmotik, dan sebagai krioprotektan. Arifiantini (2012) menyatakan bahwa, dalam melakukan pengenceran semen perlu menghindari adanya panas yang berlebihan, bahan kimia *toxic*, berhubungan dengan udara luar, sinar matahari langsung, dan guncangan.

Menurut Toelihere (1993), syarat-syarat pengencer yang baik sebagai berikut:

1. Bahan pengencer hendaknya murah, sederhana dan praktis dibuat, tetapi daya preservasinya tinggi.
2. Pengencer harus mengandung unsur-unsur (fisik dan kimiawi) yang hampir sama dengan semen dan tidak boleh mengandung zat-zat yang bersifat toksik terhadap sperma maupun terhadap saluran kelamin hewan betina.
3. Pengencer harus tetap mempertahankan dan tidak membatasi daya fertilisasi sperma.
4. Pengencer harus memberi kemungkinan penilaian sperma sesudah pengenceran.

Larutan pengencer semen yang memiliki komposisi kimia lebih lengkap akan memberikan fungsi yang baik bagi spermatozoa yang diencerkan. Substrat-substrat nutrisi dalam media pengencer diperlukan spermatozoa untuk mempertahankan hidupnya, terutama bagi spermatozoa yang disimpan terlebih dahulu sebelum diinseminasikan (Toelihere. 1993)

a. Media Pengencer Na-Sitrat dan Kuning Telur

Pengencer Na-sitrat kuning telur dipergunakan secara luas sebagai media buffer di dalam pengencer, guna memperpanjang daya hidup sperma pada suhu 5° C sampai dengan -196° C (Bearden dan Fuguay, 1984). Keuntungan dari pengencer Na-sitrat adalah semen dapat dicampur langsung dengan seluruh volume pengencer secara perlahan-lahan. Peranan dasar dalam media pengencer semen adalah dapat mempertahankan daya hidup spermatozoa dan dapat menurunkan tingkat kerusakan akrosom. Setelah diketahui semen mengandung asam sitrat dan berguna bagi spermatozoa, Salisbury, dkk (1985) berhasil menyuntikkan manfaat sitrat natricus sebagai pengganti penyandang posfat dalam pengencer kuning telur untuk preservasi daya tahan spermatozoa sapi. Sitrat natricus akan mengikat kalsium dan logam-logam berat lainnya dan butir-butir lemak didalam kuning telur sehingga sel-sel spermatozoa secara individual. Sedangkan peranan kuning telur adalah sebagai sumber energi bagi spermatozoa karena mengandung glukosa (Salisbury dkk, 1985). Pengencer sitrat kuning telur terdiri dari satu bagian kuning telur segar yang dicampur dengan penyandang sitrat natricus. Suatu penyandang nitrat natricus yang isotonik terhadap semen sapi terdiri dari 2,9 gram $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ per ml aquadestilata (Partodihardjo, 1992).

b. Media Pengencer Susu segar

Susu adalah hasil pemerahan dari ternak sapi perah atau dari ternak menyusui lainnya yang diperah secara kontinyu dan komponen-komponennya tidak dikurangi dan tidak ditambahkan bahan-bahan lain. Susu bernilai gizi tinggi sehingga susu merupakan makanan yang dapat dikatakan sempurna bagi spermatozoa (Gazali dkk, 2002).

Di dalam air susu penuh yang dihomogenisasi maupun air susu skim sel-sel sperma akan mati dalam waktu satu atau dua hari apabila air susu tersebut tidak dipanaskan terlebih dahulu untuk beberapa menit (Toelihere, 1993). Akan tetapi, apabila air susu dipanaskan terlebih dahulu, spermatozoa akan hidup didalamnya sama seperti di dalam pengencer sitrat-kuning telur, dan fertilitas yang diperoleh juga sama tinggi. Selain dari pada susu segar atau susu skim, dapat pula dipakai susu bubuk 9% dalam larutan aquadestillata (Partodihardjo, 1992).

Pengencer susu mempunyai beberapa keunggulan, diantaranya susu mengandung substansi pelindung lesitin yang berfungsi melindungi spermatozoa terhadap cekaman dingin selama proses pembekuan (Toilehere, 1993). Jones dan Mann (1977) menunjukkan bahwa kuning telur dan susu melindungi spermatozoa dari kerusakan yang disebabkan oleh peroksidasi lipid.

c. Media pengencer gliserol

Salah satu komponen penting yang harus ditambahkan pada media pengencer semen beku adalah krioprotektan. Krioprotektan yang umum digunakan pada pembekuan semen adalah gliserol, yang merupakan krioprotektan intraseluler dengan berat molekul 92,10 (Hafez, 2000). Gliserol

akan melindungi sel spermatozoa pada saat pembekuan dari kristal es tajam yang akan merusak membran spermatozoa (Park dan Pursel, 1985).

F. Ekuilibrasi

Toelihere (1993) menyatakan bahwa, waktu ekuilibrasi adalah periode yang diperlukan spermatozoa sebelum pembekuan untuk menyesuaikan diri dengan pengencer supaya sewaktu pembekuan kematian spermatozoa yang berlebih dapat dicegah. Ekuilibrasi secara tradisional dianggap sebagai waktu total selama spermatozoa tetap berhubungan dengan gliserol sebelum pembekuan. Pada tahap ini, gliserol menembus ke dalam sel spermatozoa untuk membentuk konsentrasi intraseluler dan ekstraseluler yang seimbang. Jangan diabaikan bahwa pada ekuilibrasi tidak hanya terjadi keseimbangan konsentrasi gliserol, tetapi juga komponen ekstender osmotis aktif lainnya (Maxwell, 2000).

Waktu ekuilibrasi berbeda-beda pada berbagai jenis, bangsa dan individu pejection. Menurut Toelihere (1993), bahwa semen harus berada di dalam pengencer dengan atau tanpa gliserol selama kurang lebih 4 jam pada suhu 5⁰C. Menurut pendapat Arifiantini, dkk (2007) bahwa ekuilibrasi bertujuan melindungi spermatozoa dari kematian yang disebabkan oleh penurunan tekanan osmotik yang mengganggu keutuhan membran spermatozoa akibat pembekuan.

G. Semen Beku

Semen beku adalah semen yang disimpan pada temperatur rendah. Teknologi pembuatan semen beku dapat meningkatkan kemampuan hidup dan membuahi karena adanya gliserol untuk melindungi spermatozoa selama pembekuan. Prinsip penambahan gliserol sebagai krioprotektan akan melindungi spermatozoa dari kerusakan karena pembekuan. Adapun mekanisme kerja

adalah memodifikasi kristal es sehingga menghambat pengrusakan mekanik dan mendesak keluar elektrolit intraseluler untuk mencegah pengrusakan biokemik. (Arifiantini dkk, 2010).

Penanganan semen beku membutuhkan penanganan yang spesial dengan tidak memindahkan straw dari satu kontainer ke kontainer lainnya, untuk menghindari resiko kerusakan spermatozoa yang tinggi akibat dari penanganan yang kurang baik. Semen beku tidak boleh di udara lebih dari 2 menit pada waktu pemindahan, untuk itu harus secepatnya di proses. Thawing dimulai dari temperature -120°C dan semua alat-alat yang berkaitan dengan thawing harus hangat untuk mencegah kerusakan sel (Arifiantini, 2012).

H. Thawing

Setelah disimpan di dalam nitrogen cair selama 60 menit, semen beku dicairkan kembali (thawing) dengan cara memasukkan straw ke dalam air hangat temperatur 35°C – 37°C selama 30 detik kemudian semen diperiksa kualitasnya melalui pengamatan dengan menggunakan mikroskop. Semen yang baik harus mempunyai nilai minimal 40% hidup (Toelihere, 1993).

Straw dapat dithawing dengan suhu 30°C – 40°C atau lebih tinggi. Proses thawing harus dilakukan dengan hati-hati karena dampak kematian sel saat thawing sama besarnya dengan proses pembekuan (Arifiantini, 2012). Prinsip dari Thawing adalah semakin dingin suhu thawing maka waktunya semakin lama, sebaliknya semakin tinggi suhu thawing maka waktunya semakin cepat (Arifiantini, 2012).

III. MATERI DAN METODE PENELITIAN

A. Materi Penelitian

Materi dalam penelitian ini adalah semen sapi Simental berasal dari 3 ekor sapi Simental jantan dewasa berumur 3-5 tahun yang ada di Balai Bibit Inseminasi Buatan Tuah Sakato Payakumbuh dan berada dalam kondisi alat reproduksi yang normal.

Bahan Penelitian

Bahan- bahan yang digunakan adalah media pengencer Na-Sitrat, Kuning Telur dan Susu Segar, vaselin, air panas, tissue, semen sapi Simental, alkohol, Aquadestilata, Penicilin, Streptomiosin, pewarna eosin, Nitrogen cair, NaCl fisiologis, Gliserol dan Fruktosa.

Peralatan Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi :

1. Peralatan penampungan semen : Vagina buatan 1 set, thermometer klinis, gelang karet, tabung berskala, termos air, dan kandang penjepit.
2. Peralatan analisis spermatozoa : Ice Cube 14S, *water bath*, *CASA* (*Computerized Assisted Sperm Analyzed*) versi *spermvision*, printer straw, *automatic filling and sealing machine*, fotometer SDM 6, *Cool top*, Mikroskop, *heating table*, *thermometer sensor digital*, indikator Ph, *Haemocytometer*, lemari pendingin, tabung kontainer, kertas saring, jarum, straw, tisu, objek glass, *cover glass*, gunting, pipet tetes, gelas ukur, tabung erlenmeyer, aluminium foil, mikropipet, *counter*, *Styrofoam*, goblet dan TV LCD.

B. Metode Penelitian

1. Rancangan Percobaan

Penelitian dilakukan secara metode eksperimental laboratoris dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) pola faktorial 2x3. Faktor A, terdiri dari media Pengencer Sitrat- kuning telur (A1) dan susu segar (A2). Faktor B Laju penurunan suhu pembekuan 5°C (B1), 10°C (B2), dan 15°C(B3), dengan 3 kali ulangan (3 ekor sapi Simental). Perbedaan antar perlakuan dilanjutkan dengan uji *Duncans Multiple Range Test* (DMRT) menurut Steel dan Torrie (1991).

Model matematika dari penelitian ini adalah :

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Y_{ijk} = Nilai pengamatan ke-k dari kombinasi perlakuan taraf ke-i dari Faktor A dengan taraf ke-j dari Faktor B.

μ = Nilai tengah umum.

α_i = Pengaruh taraf ke-i dari Faktor A.

β_j = Pengaruh taraf ke-j dari Faktor B

$(\alpha\beta)_{ij}$ = Pengaruh interaksi taraf ke-i dari Faktor A dengan taraf ke-j dari Faktor B.

ϵ_{ijk} = Pengaruh galat/sisa pada satuan percobaan yang memperoleh perlakuan taraf ke-i dari Faktor A, ke-j dari Faktor B dan ulangan ke-k

2. Pelaksanaan Penelitian

1. Pembuatan Media Pengencer

Media pengencer sitrat-kuning telur

Adapun komposisi media pengencer sitra-kuning telur dapat dilihat pada Tabel 2 sebagai berikut:

Tabel 2. Komposisi Media Pengencer Sitrat-Kuning telur

Bahan Pengencer	Jumlah
1. Komposisi bahan pengencer Na-Sitrat	
Na-Sitrat	2.9 gr
Antibiotik penicylin	1000 IU
Streptomycin	1 mg
Aquadestilata	100 ml
2. Komposisi kuning telur	
kuning telur ayam Buras	20 ml
3. Komposisi Gliserol	
Gliserol	6 ml

Sumber : Partodihardjo (1992)

Prosedur pembuatan media pengencer sitrat-kuning telur adalah sebagai berikut:

- 2.9 gr Na-sitrat dilarutkan dalam 100 ml aquades, panaskan sampai suhu 92° C dan dinginkan pada suhu kamar.
- Telur segar dibersihkan kulitnya menggunakan kapas berakohol.
- Kulit telur hingga 1/3-1/2 bagian dibuang dengan menggunakan pinset steril, buang semua cairan putih telur. Kuning telur yang utuh dan terbungkus selaput vitellin di pindahkan ke atas kertas hisap untuk menghilangkan cairan putih telur yang tersisa.
- Selaput vitellin dipecahkan dan alirkan kuning telur ke dalam gelas ukur.
- Larutan Na-sitrat dicampurkan dengan kuning telur dan diaduk hingga rata.
- Antibiotic penicillin 1000 IU dan streptomycin 1 mg dimasukkan kedalam setiap ml pengencer serta diaduk hingga rata.

Media pengencer Susu segar

Adapun susunan komposisi media pengencer susu segar dapat dilihat pada

Tabel 3 sebagai berikut:

Tabel 3. Komposisi Media Pengencer Susu Segar

Bahan Pengencer	Jumlah
Susu Sapi Segar	94 ml
Antibiotik penicylin	1000 IU
Streptomycin	1 mg
Gliserol 6%	6 ml

Sumber : Partodihardjo (1992)

Prosedur pembuatan media pengencer susu segar adalah sebagai berikut:

- Air susu sapi segar sebanyak 100 ml dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer yang di pasang thermometer berkapasitas 100° C.
- Tabung erlenmeyer dimasukkan ke dalam sebuah bejana berisi air dan dipanaskan secara tidak langsung sampai suhu 90-92°C.
- Suhu air susu tersebut diturunkan perlahan-lahan hingga suhu kamar (20-27°C).
- Antibiotic 1000 IU dan streptomycin 1mg dimasukkan ke dalam 100 ml air susu yang telah di dinginkan dan diaduk hingga rata.

2. Penampungan Semen

Betina pemancing dimasukkan ke dalam kandang jepit, penampung berada disebelah kanan memegang vagina buatan dengan tangan kanan. Pejantan didekatkan kepada betina pemancing, namun tidak diberi kesempatan untuk menaikinya hal ini disebut dengan false mount, yang bertujuan untuk menambah libido agar ereksi terjadi secara sempurna. Setelah melakukan 3 kali false mount pejantan dibiarkan menaiki betina pemancing. Penampung memegang penis dengan tangan kiri dan mengarahkan ke dalam vagina buatan sehingga ejakulasi terjadi di dalam vagina buatan yang ditandai dengan dorongan yang kuat dari

penis yang berereksi dengan sempurna pada vagina buatan. Persiapan vagina buatan adalah sebagai berikut : Vagina buatan terdiri dari selongsong karet tipis yang dimasukkan ke dalam silinder karet tebal. Lipat dan kaitkan karet tipis pada masing-masing ujung silinder karet yang tebal dengan menggunakan gelang-gelang karet yang dipasang 5 cm dari ujung silinder. Sebuah corong penampung dari karet tipis dipasang pada salah satu ujung vagina buatan dan dieratkan dengan karet gelang (Herdiawan, 2004).

Pada ujung corong penampung dipasang sebuah tabung pengumpul semen berskala, lalu diikat pula dengan karet gelang. Air panas dengan suhu 42°C sampai 50°C dimasukkan ke dalam ruang antara silinder dan selongsong karet yang tipis melalui lubang pada silinder dengan volume setengah sampai dua pertiga penuh. Suhu vagina buatan dipertahankan pada waktu penampungan berkisar antara 40°C sampai 45°C (Herdiawan, 2004).

Udara ditiupkan melalui pentil silinder yang gunanya untuk menambah tekanan pada vagina buatan. Kemudian dengan sebatang ebonite atau gelas yang steril oleskan bahan pelicin sampai setengah panjang batang vagina buatan. Setelah vagina buatan disiapkan, pejantan sapi Simental yang akan ditampung semennya dibawa ke kandang penampungan yang telah tersedia betina pemancing. Penampung berada disebelah kanan betina pemancing sambil memegang vagina buatan dengan kemiringan 45° dari tanah. Semen ditampung ketika ejakulasi terjadi, yang ditandai dengan adanya dorongan yang kuat dari penis yang berereksi dengan sempurna pada vagina buatan (Herdiawan, 2004).

3. Evaluasi Semen

Evaluasi semen dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Evaluasi semen secara makroskopis meliputi volume, bau, warna, konsistensi dan derajat keasaman (pH) semen, selanjutnya dilakukan penilaian secara mikroskopis yaitu melihat konsentrasi dan menghitung motilitas spermatozoa, abnormalitas, presentase hidup, serta membran plasma utuh.

4. Gliserolisasi

Media pengencer yang sudah dibuat sebanyak 100 ml, dikeluarkan 6% yang kemudian diganti dengan gliserol sebanyak 6% kedalam pengencer dan diaduk hingga semua tercampur rata.

5. Pengenceran

Setelah diketahui jumlah volume pengencer sampel semen dibagi dua bagian, satu bagian diencerkan dengan Na-Sitrat kuning telur dan kedua diencerkan dengan susu segar. Pengenceran dengan metode satu tahap, dilakukan dengan cara memasukkan pengencer melalui dinding gelas erlenmeyer yang berisi semen secara perlahan hingga seluruh pengencer tercampur homogen. Pencampuran antara semen segar dan pengencer dilakukan pada suhu kamar atau menggunakan water bath bersuhu 37° C.

6. Printing straw

Untuk mempermudah dalam mengoleksi semen, straw dicetak menggunakan alat *printer straw* dengan keterangan straw warna merah untuk suhu 15⁰C/menit, straw warna bening untuk penurunan suhu 10⁰C/menit dan straw warna biru untuk penurunan suhu 5⁰C/menit. Untuk membedakan jenis pengencernya ditandai dengan A1 untuk jenis pengencer sitrat-kuning telur dan A2 untuk jenis pengencer susu segar serta diberi nama pendonor sapi Simental.

7. Pengisian straw (*filling dan sealing*)

Pengisian straw dilakukan dengan menggunakan alat *automatic filling and sealing machine* dengan volume sebanyak 0,25/straw. Ministraw dibedakan dalam tiga warna yaitu biru untuk tingkat perlakuan laju penurunan suhu 5° C/menit; bening untuk tingkat perlakuan laju penurunan suhu 10° C/menit, dan merah untuk tingkat perlakuan laju penurunan suhu 15° C/menit.

8. Ekuilibrase

Ekuilibrase dilakukan setelah sampel semen dikemas didalam straw yang telah diberi tanda. Proses ekuilibrase berlangsung selama 30 menit di dalam *cool top* bersuhu 4° C (proses penyesuaian suhu). Pada saat proses ini berlangsung terjadi penurunan suhu dari 37°C menuju 4°C. Setelah itu Semen didistribusikan ke Laboratorium Bioteknologi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Andalas Padang dengan menggunakan *Styrofoam* yang telah diberi batu es dengan suhu 1°C-4°C yang telah di atur menggunakan thermometer digital sensor.

9. Pembekuan semen

Pembekuan semen dilakukan dalam *Ice Cube Computer Analysis Controler System*. Di sebelah Ice Cube terletak tabung kontainer penampung N₂ cair, dan selang penghubung antara Ice Cube dan kontainer untuk mengalirkan uap Nitrogen cair kedalam Ice Cube. Proses pembekuan straw di lakukan di dalam Ice Cube yang di letakkan dalam rak-rak yang tersusun di dalam Ice Cube. Untuk memperoleh suhu pembekuan yang berbeda dapat di atur menggunakan komputer yang terhubung langsung dengan alat pembekuan. Straw dibekukan dengan uap

N₂ cair hingga suhu beku mencapai -120°C. Untuk proses pembekuan di mulai dengan kecepatan penurunan suhu 15°C selama 8.27 menit, 10°C selama 12.4 menit, dan 5°C selama 24.8 menit.

10. Thawing

Setelah sampel semen dibekukan selama satu hari dengan suhu -196°C di dalam container yang berisi Nitrogen cair, kemudian diambil dan dithawing menggunakan air hangat dalam waterbath dengan suhu 37°C selama 30 detik. Proses thawing dilakukan secara hati-hati karena dampak kematian sel pada waktu thawing sama besarnya pada saat proses pembekuan.

11. Evaluasi semen beku

Evaluasi semen beku dilakukan setelah straw dithawing di waterbath bersuhu 37° C selama 30 detik, sampai semen dalam straw benar-benar mencair, kemudian sampel semen dikeluarkan untuk dievaluasi secara mikroskopis dengan cara meneteskan satu tetes semen di atas objek glass dan di periksa diatas mikroskop dengan pembesaran 10x10 serta dilanjutkan dengan pembesaran 45x10. Setelah itu baru dilanjutkan pengamatan sesuai dengan variabel yang diukur.

3. Variabel yang Diukur

Variable yang diukur selama penelitian ini adalah

1. Motilitas Spermatozoa Sesudah Thawing

Melakukan Pengamatan motilitas spermatozoa dengan meneteskan satu tetes semen pada objek glass yang telah tercampur dengan NaCl fisiologis dengan perbandingan 1:4. Kemudian diperiksa di bawah *Computerized assisted Sperm Analyzed* (CASA). CASA akan langsung mendeteksi secara otomatis

spermatozoa yang bergerak motil dan akan ditampilkan dalam bentuk persen (Sarastina dkk, 2012).

2. Presentase Spermatozoa Hidup

Persentase hidup spermatozoa dilakukan dengan teknik pewarnaan yaitu dengan membuat preparat ulas. Semen ditetaskan satu sampai dua tetes di atas gelas objek yang bersih dan selanjutnya ditetaskan pula satu sampai dua tetes zat pewarna eosin. Kemudian diaduk dengan hati-hati menggunakan batang pengaduk sampai merata dan homogen. Preparat ulas yang terbentuk dikeringkan dan kemudian diperiksa dibawah mikroskop. Spermatozoa yang mati akan menyerap warna karena meningkatnya permeabilitas sel dan spermatozoa yang hidup tidak menyerap warna (Susilawati,2011). Toelihere (1993) menyatakan Hitung sekurang-kurangnya 200 spermatozoa yang hidup dan mati , untuk mendapatkan hasilnya menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Presentase Hidup} = \frac{\text{Jumlah Spermatozoa yang hidup}}{\text{jumlah Spermatozoa yang di hitung}} \times 100\%$$

3. Abnormalitas Spermatozoa

Menurut Arfiantini (2012) abnormalitas spermatozoa diperoleh dengan cara menghitung spermatozoa yang abnormal dengan membuat preparat ulas yang tipis dengan pewarnaan differnsial yang kemudian diamati di bawah mikroskop perbesaran 40x10. Kemudian dilihat spermatozoa abnormal atau berubah morfologinya yang ditandai dengan ekor menggulung, ekor terputus dan bagian tengah terlipat. Toelihere (1993) menyatakan menghitung spermatozoa abnormal menggunakan objek glass untuk membuat kaca preparat ulas dengan sudut 45° dan hitung persentase abnormalitas spermatozoa dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Abnormalitas spermatozoa} = \frac{\text{Spermatozoa abnormal}}{\text{Jumlah spermatozoa yang dihitung}} \times 100\%$$

4. Membran Plasma Utuh

Spermatozoa yang memiliki membran plasma utuh ditandai dengan ekor melingkar bila dipaparkan dengan larutan hipotonis *Hypoosmotic*, karena transportasi air ke dalam sel berlangsung baik. Sebaliknya membran plasma rusak akan ditandai dengan ekor spermatozoa yang tetap lurus karena transportasi air ke dalam sel sudah rusak (Tambing dkk, 2001). Larutan *Hypoosmotic* dibuat dengan menggunakan campuran 0,9 gram fruktosa dan 1,2 gram sodium sitrat yang dilarutkan dalam aquabides sebanyak 100 ml. Semen yang akan diuji dicampur dengan larutan *Hypoosmotic* dan di homogenkan, kemudian diinkubasi selama 45 menit (Arifiantini, 2012). Perbandingan antara larutan *Hypoosmotic* dengan Semen adalah 1:10 atau 10 μ l semen dan 1000 μ l. Pengujian dilakukan dengan meneteskan sampel yang sudah tercampur di atas objek glass dan ditutup dengan cover glass, kemudian dilakukan evaluasi dengan mikroskop perbesaran 400x, minimal 200 spermatozoa.

$$\text{MPU} = \frac{\text{Jumlah Spermatozoa mpu}}{\text{jumlah Spermatozoa yang di hitung}} \times 100\%$$

5. Waktu dan Tempat Penelitian

Waktu pelaksanaan penelitian ini dimulai dari tanggal 15 Februari 2015 sampai tanggal 10 April 2015 yang dilaksanakan di 2 tempat yang pertama di Balai Inseminasi Buatan Tuah Sakato Kota Payakumbuh dan yang kedua di Laboratorium Bioteknologi ternak Fakultas Peternakan Universitas Andalas Padang.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Kualitas Semen Segar Sapi Simental Sebelum Perlakuan

Hasil evaluasi secara makroskopis dan mikroskopis semen sapi Simental yang ditampung selama penelitian dari tiga ekor sapi Simental pejantan unggul di BIB Tuah Sakato Payakumbuh pada bulan April dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil evaluasi Semen Segar Sapi Simental

No	Penilaian	Penampungan			Nilai Rataan
		1	2	3	
1	Makroskopis				
	Volume (ml)	7,3	8,4	6,5	7,4±0,95
	Warna	K	K	K	K
	Konsistensi	Kental	Kental	sedang	
	Ph	7	7	7	7
	Bau	N	N	N	N
2	Mikroskopis				
	Gerakan Massa	+++	+++	++	+++
	Konsentrasi 10 ⁷	270	260	240	256,67±15,28
	Spermatozoa Hidup	88,50	86,50	85,50	86,83±1,53
	Motilitas	86,34	85,73	83,28	85,12±1,62
	Abnormalitas	10,00	11,00	11,50	10,83±0,76
	MPU	85,50	84,50	83,00	84,33±1,26

Keterangan:

- K : Krem
- N : Normal
- ++ : Progresif
- +++ : Sangat Progresif

1. Volume

Dari hasil penampungan semen yang dilakukan selama penelitian pada tiga ekor sapi Simental diperoleh volume sebagai berikut : penampungan semen sapi pertama adalah sebanyak 7,3 ml, penampungan semen sapi kedua 8,4 ml dan penampungan semen sapi ketiga sebanyak 6,5 ml dengan rata-rata 7,4±0,95ml. Hasil penampungan yang diperoleh ini tergolong normal karena sesuai dengan

volume semen sapi yang dikemukakan oleh Toelihere (1993) bahwa volume semen sapi bervariasi antara 1,0-15,0 ml per ejakulasi. Volume yang didapat tersebut juga sama dengan yang dikemukakan oleh Feradis (2010) volume semen sapi berkisar antara 5-8 ml. Susilawati (2011) menambahkan bahwa volume semen dapat berbeda-beda menurut bangsa, umur, ukuran badan, tingkat makanan, frekuensi penampungan dan faktor lain, namun untuk sapi berkisar 5-15 ml. Rata-rata volume yang ditampung termasuk dari standar pengolahan semen segar di berbagai Balai Inseminasi Buatan yang ada di Indonesia.

2. Warna

Warna semen yang diperoleh selama penelitian dari penampungan tiga ekor pejantan sapi Simental adalah krem. Hal tersebut tergolong normal bila dibandingkan dengan hasil penelitian Lestari, dkk (2013) yang menyatakan bahwa bangsa sapi Simental 94% menghasilkan semen berwarna putih susu. Hal ini dipertegas oleh Feradis (2010) bahwa semen sapi normal berwarna seperti susu atau krem dan keruh. Derajat kekeruhannya tergantung pada konsentrasi spermatozoa yang ada didalamnya, semakin keruh biasanya jumlah sperma per ml semen ini semakin banyak (Partodihardjo, 1992).

Warna yang dihasilkan diduga disebabkan oleh pigmen riboflavin yang dibawa oleh satu gen autosomal resesif, namun tidak mempengaruhi fertilitas (Toelihere,1993). Dari uraian diatas dapat dikatakan bahwa semen yang digunakan dalam penelitian ini termasuk normal, warna krem menunjukkan konsentrasi spermatozoa yang terkandung didalamnya. Warna semen juga dapat berubah karena tercemar darah, air kencing atau nanah dan produk-produk radang yang lain (Hardijanto dkk, 2008).

3. Konsistensi

Konsistensi semen yang didapatkan dalam penelitian ini terbagi dua kelompok yakni dua penampungan pertama hasilnya kental sedangkan pada penampungan ketiga sedang. Konsistensi tersebut diperoleh dengan cara menggoyangkan tabung berisi semen secara perlahan-lahan. Kekentalan dan sifat-sifat semen tergantung pada konsentrasi spermatozoa per ml semen (Salisbury dan Vandenmark, 1985). Semakin kental semen yang diejakulasi oleh suatu organisme, dapat diartikan bahwa konsentrasi spermatozoa yang terkandung di dalamnya juga semakin tinggi. Pada sapi, semen dengan konsistensi krem mempunyai konsentrasi 1000 – 2000 juta atau lebih sel/ml, konsistensi seperti susu encer memiliki konsentrasi 500 – 600 juta sel/ml, semen yang cair berawan atau hanya sedikit kekeruhan konsentrasinya sekitar 100 juta sel/ml dan yang jernih seperti air kurang dari 50 juta sel/ml (Toelihere, 1993).

4. pH

Dari penampungan semen pejantan unggul pada 3 ekor sapi Simental yang dipelihara di BIB Tuah Sakato Payakumbuh diperoleh dengan rata-rata pH semen 7. pH tersebut tergolong normal, karena sesuai dengan pH semen sapi segar umumnya yaitu berkisar antara 6,4-7,8 (Garner dan Hafez, 2000). Hal tersebut juga sama dengan pendapat Toelihere (1993) bahwa semen sapi memiliki pH netral yaitu sekitar 6,2-7,5. Makin baik kualitas semen cenderung pHnya semakin asam, karena kualitas semen yang baik dan dihasilkan asam laktat yang banyak. Sementara jika terlalu asam akan bersifat racun terhadap spermatozoa sehingga banyak didapatkan spermatozoa yang mati (Hardijanto dkk, 2008).

5. Bau

Bau semen yang diperoleh dalam penelitian dari penampungan semen tiga ekor sapi Simental ini tergolong normal yaitu berbau khas. Hal tersebut sesuai pendapat Toelihere (1993) bahwa bau semen normal adalah berbau khas atau merangsang. Dan sependapat juga dengan Prasetyo, (2013) Umumnya bau semen dikategorikan sebagai bau khas. Hal ini juga dikemukakan oleh Arifiantini, (2012) bahwa bau semen normal adalah bau amis atau anyir. Bau semen dapat dinilai dengan mengibaskan tangan di atas tabung penampung semen. Bau semen banyak di pengaruhi oleh bau cairan dari kalenjer pelengkap, sehingga menyebabkan bau yang khas pada semen (Hardijanto, 2008).

6. Gerakan Massa

Berdasarkan hasil evaluasi dari penampungan semen pada tiga ekor sapi Simental tersebut diperoleh gerakan massa yang terbagi menjadi dua kelompok, penampungan pertama dan kedua didapatkan pergerakan spermatozoa sangat progresif (+++) dan pada penampungan ketiga didapatkan pergerakan progresif (++) . Hal tersebut memenuhi syarat kualitas semen segar menurut Partodihardjo (1992) bahwa syarat minimal untuk pengolahan semen yang mempunyai gerakan massa baik (++) . Pada gerakan massa yang baik (++) terlihat gelombang-gelombang kecil, tipis, jarang, kurang jelas dan bergerak lamban (Feradis, 2010). Dipertegas oleh Toelihere (1993) spermatozoa dalam suatu kelompok mempunyai kecenderungan untuk bergerak bersama-sama kesatu arah merupakan gelombang yang tebal atau tipis, bergerak cepat atau lambat tergantung dari konsentrasi spermatozoa hidup didalamnya. Gerakan masa semen yang didapatkan ini juga sependapat dengan Hardijanto, dkk (2008) yaitu semen yang memenuhi syarat

untuk inseminasi buatan adalah yang gerakan masnya berbentuk gelombang-gelombang besar yang banyak dan bergerak cepat (+++/sangat baik) serta yang membentuk gelombang tipis dan gerakan lamban (++/baik).

7. Konsentrasi

Dari penampungan semen pada tiga ekor sapi Simental didapatkan konsentrasi : 270×10^7 /ml sapi pertama, 260×10^7 /ml sapi kedua dan 240×10^7 /ml sapi ketiga , dengan rata-rata $256,67 \times 10^7 \pm 15,28$ spermatozoa per ml. Konsentrasi yang diperoleh tergolong baik. Penilaian konsentrasi atau jumlah spermatozoa per ml semen sangat penting karena faktor inilah yang menggambarkan sifat-sifat semen dan dipakai sebagai salah satu kriteria penentuan kualitas semen (Toelihere,1993). Konsentrasi digabung dengan volume dan persentase spermatozoa motil memberikan jumlah spermatozoa motil per ejakulasi, yaitu kuantitas yang menentukan jumlah betina yang dapat diinseminasi per ejakulat (Feradis, 2010).

8. Persentase Spermatozoa Hidup

Berdasarkan penampungan semen dari tiga ekor pejantan unggul sapi Simental. Persentase spermatozoa hidup dapat dihitung dari banyaknya spermatozoa yang hidup dibandingkan dengan jumlah spermatozoa yang dihitung dan dikali 100%. Untuk membedakan spermatozoa yang hidup dengan yang mati dapat dilakukan dengan penggunaan cairan pewarna eosin. Afriantini (2012) menyebutkan bahwa eosin akan menembus selaput spermatozoa mati dan tidak akan menembus selaput spermatozoa yang hidup. Spermatozoa yang mati karena rusak atau hilangnya lapisan lipoid tersebut, maka zat pewarna sangat mudah

menembus masuk ke dalam spermatozoa sehingga berubah warna merah-keunguan (Hardijanto, dkk 2008).

Setelah melakukan pemeriksaan dari setiap sampel semen yang ditampung diperoleh persentase spermatozoa hidup pada sapi pertama sekitar 88,50%, pada penampungan sapi kedua 86,50% serta penampungan sapi ketiga 85,50 % dengan rata-rata $86,83 \pm 1,53\%$. Persentase spermatozoa hidup sapi Simental ini memenuhi standar kualitas semen yang dapat dipakai untuk dijadikan semen beku dalam keperluan IB. Sesuai dengan pendapat Hafez (2000) semen segar yang akan diproses lanjut seharusnya mengandung spermatozoa hidup minimal 80%. Demikian juga menurut Toelihere (1993) bahwa standar minimum kualitas semen yang dapat dipakai untuk IB adalah 500 juta sel/ml per ejakulat dan 50% spermatozoa yang hidup dan motil. Partodihardjo (1992) juga menyatakan bahwa semen yang baik mengandung 60% atau lebih spermatozoa hidup.

9. Motilitas

Motilitas yang diperoleh dalam penelitian adalah 86,34% pada penampungan pertama, serta 85,73% pada penampungan kedua dan 83,28% pada penampungan ketiga dengan rata-rata ketiga penampungan tersebut adalah $85,12 \pm 1,62\%$. Penentuan persentase motilitas yang tepat sangat penting dalam menentukan kadar pengenceran maksimum spermatozoa yang disiapkan untuk inseminasi buatan. Nilai motilitas yang diperoleh termasuk berkualitas sangat baik. Sesuai dengan pendapat Feradis (2010) pejantan yang fertil mempunyai 50% - 80% spermatozoa yang motil aktif progresif. Pada penelitian ini perolehan motilitas spermatozoa berada di atas 80% Nilai tersebut juga menunjukkan bahwa

semen segar tersebut layak diproses menjadi semen beku karena nilai motilitasnya diatas 60% (Sarastina dkk, 2012).

10. Persentase Abnormalitas

Pemeriksaan abnormalitas spermatozoa hampir sama dengan pemeriksaan persentase hidup. Kelainan banyak terdapat pada daerah kepala, leher, ekor dan adanya *protoplasmic droplet*. Semakin meningkat jumlah spermatozoa abnormal semakin rendah kesuburan semen ternak tersebut. Spermatozoa yang cacat walaupun dapat membuahi sel telur namun biasanya berakhir dengan kematian dini terhadap anak sebelum dilahirkan (Hardijanto dkk, (2008). Abnormalitas spermatozoa yang didapatkan dari hasil evaluasi semen berturut-turut yaitu 10,00%, 11,00%, dan 11,50 dengan rata-rata $10,83 \pm 0,76\%$. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa semen tergolong berkualitas baik. Sesuai pendapat Feradis (2010) abnormalitas tidak boleh lebih dari 15% karena akan berpengaruh terhadap fertilitas. Seperti juga yang dikemukakan oleh Toelihere (1993) semen yang dapat dipakai untuk keperluan inseminasi buatan persentase abnormalitas spermatozoanya harus kurang dari 20%.

11. Membran Plasma Utuh (MPU)

Membran plasma utuh spermatozoa yang diperoleh dari evaluasi semen sapi Simental adalah 85,50% pada penampungan sapi pertama, 84,50% penampungan pada sapi kedua, dan 83,00% pada sapi ketiga dengan rata-rata $84,33 \pm 1,26\%$. Hasil ini tergolong baik dan dapat diproses untuk dijadikan semen beku. Sesuai dengan pendapat Arifiantini (2012) nilai persentase membran plasma utuh semen segar yang kurang dari 60% dikategorikan sebagai semen infertil. Membran Plasma utuh harus dimiliki oleh spermatozoa agar dapat

memfertilisasi oosit. Selain berfungsi melindungi secara fisik organel sel, membran plasma juga mengatur keluar masuknya zat-zat makanan serta keseimbangan elektrolit intra dan ekstraseluler. Apabila membran plasma rusak maka proses metabolisme sel akan terganggu dan spermatozoa mati (Toelihere,1993).

B. Hasil Penilaian Kualitas Spermatozoa Setelah Perlakuan

1. Motilitas Spermatozoa Sesudah Thawing

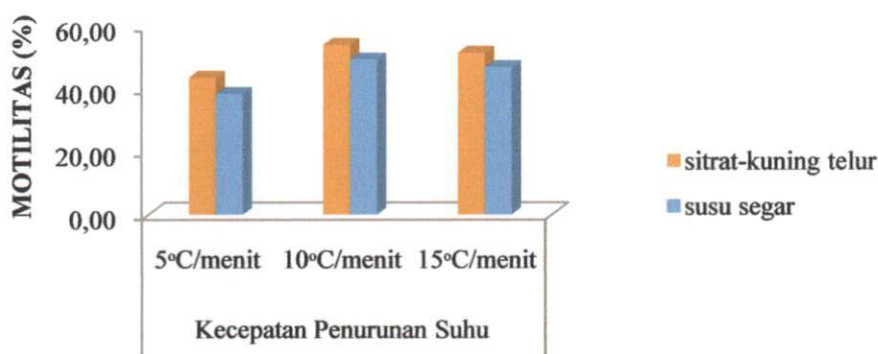
Hasil pengamatan pengaruh perlakuan kecepatan penurunan suhu 5⁰C/menit (B1), 10⁰C/menit (B2), dan 15⁰C/menit (B3) pada motilitas spermatozoa sapi Simental yang diencerkan dengan media pengencer sitrat-kuning telur (A1) dan susu segar (A2) dapat dilihat pada Tabel 5, sedangkan diagramnya terdapat pada Gambar 1.

Tabel 5. Rataan Persentase Motilitas Spermatozoa dari Dua Media Pengencer dengan Kecepatan Penurunan Suhu Pembekuan terhadap Semen Beku pada Sapi Simental

Faktor A	Faktor B (°C/menit)			Jumlah	Rataan
	5	10	15		
Sitrat-kuning telur	43,54 ^e	54,01 ^a	51,47 ^b	149,02	49,67±5,46
Susu segar	38,41 ^f	49,33 ^c	46,89 ^d	134,63	44,88±5,74
Jumlah	81,95	103,35	98,36		
Rataan	40,98±3,63	51,67±3,31	49,18±3,23		

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

Hasil analisis keragaman (lampiran 2) menunjukkan bahwa terdapat interaksi berbeda nyata (P<0,05) antara media pengencer dengan kecepatan penurunan suhu pembekuan terhadap persentase motilitas spermatozoa setelah pembekuan.



Gambar 1. Rataan persentase motilitas pada dua macam media pengencer dengan tiga kecepatan penurunan suhu pembekuan pada semen sapi Simental.

Dari hasil uji lanjut berganda Duncan menunjukkan persentase motilitas spermatozoa pada interaksi perlakuan A1B2 sangat nyata paling tinggi ($P < 0,01$) diikuti oleh perlakuan A1B3, A2B2, A1B1, A2B3, serta yang terendah pada perlakuan A2B1. Ini menunjukkan pada penggunaan media pengencer sitrat-kuning telur dengan kecepatan penurunan suhu $10^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ menghasilkan persentase motilitas spermatozoa paling tinggi dibandingkan dengan perlakuan yang lainnya.

Tingginya persentase motilitas spermatozoa pada penggunaan media pengencer sitrat-kuning telur dan kecepatan penurunan suhu $10^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ (A1B2) disebabkan karena media pengencer sitrat-kuning telur memiliki titik beku lebih rendah sebesar -12°C (Herdiawan, 2004). Titik beku tersebut berhubungan erat dengan kecepatan laju penurunan suhu pembekuan dalam proses pembentukan kristal-kristal es, serta tingkat keseimbangan tekanan osmotik sebagai akibat perbedaan konsentrasi elektrolit intraseluler dan ekstraseluler. Proses pembentukan kristal-kristal es pada media pengencer sitrat-kuning telur terjadi lebih lambat dengan ukuran kristal yang halus. Akibatnya dapat mencegah terjadinya dehidrasi sel spermatozoa selama proses pembekuan berlangsung dan dapat mengurangi dampak kerusakan sel spermatozoa secara fisik maupun secara

kimiawi saat thawing, sehingga motilitas spermatozoa dapat dipertahankan tetap tinggi. Sesuai dengan pendapat Herdiawan (2004) titik beku pada penggunaan media pengencer tris-sitrat kuning telur jauh lebih rendah yakni -15°C dan diikuti dengan media pengencer sitrat-kuning telur sebesar -12°C , pembentukan kristal-kristal es pada tingkat perlakuan jenis pengencer tris-sitrat kuning telur dan sitrat-kuning telur terjadi lebih lambat dengan ukuran kristal yang halus, sehingga motilitas spermatozoa dapat di pertahankan dan tetap tinggi.

Adapun pada kecepatan penurunan suhu pembekuan 10°C terdapat lama waktu yang digunakan pada proses pembekuan yaitu selama 12,4 menit, dan ini berada pada standar waktu yang dibutuhkan untuk pembekuan semen secara manual yaitu berkisar antara 9-13 menit di atas uap nitrogen cair. Sesuai dengan pendapat Arifiantini, dkk (2007) standar lama proses pembuatan semen beku berkisar antara 9-13 menit yang dilakukan secara manual di atas permukaan nitrogen cair. Demikian juga dengan pendapat Molova (1983), jenis pengencer sitrat kuning telur pada laju penurunan suhu optimum menghasilkan motilitas spermatozoa paling tinggi pada laju penurunan suhu yang sama. Pada kondisi lama waktu yang demikian, kerusakan pada sel spermatozoa dapat dikurangi sehingga motilitas spermatozoa tinggi dan dapat dipertahankan. Dengan demikian penggunaan media pengencer sitrat-kuning telur disertai dengan kecepatan laju penurunan suhu pembekuan $10^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ menghasilkan persentase motilitas spermatozoa yang paling tinggi.

Rendahnya persentase motilitas spermatozoa pada perlakuan media pengencer susu segar dan kecepatan laju penurunan suhu pembekuan 5°C (A2B1) disebabkan karena media pengencer susu segar mempunyai titik beku yang

tinggi yakni sebesar $-0,5^{\circ}\text{C}$ (Saleh, 2004). Akibat tingginya titik beku pada media pengencer susu segar akan terjadi pembentukan kristal-kristal es yang lebih cepat dan ukuran kristal lebih kasar yang dapat mengakibatkan spermatozoa mengalami kerusakan sel secara fisik maupun kimia lebih tinggi. Sesuai dengan pendapat Herdiawan (2004) tingginya titik beku pada penggunaan media pengencer akan mempercepat proses pembentukan kristal es sehingga menghasilkan ukuran kristal yang kasar. Akibatnya motilitas spermatozoa menjadi turun dan tidak dapat dipertahankan, yang ditunjukkan oleh paling rendahnya persentase motilitas spermatozoa pada perlakuan tersebut.

Adapun lama waktu yang terpakai pada kecepatan penurunan suhu 5°C yaitu selama 24,8 menit dalam proses pembekuan membuat spermatozoa kehilangan energi lebih banyak. Proses pembekuan lambat ini mengakibatkan banyaknya air yang keluar untuk mencapai keseimbangan potensial kimiawi intraseluler dan ekstraseluler pada sel spermatozoa. Akibatnya spermatozoa kehilangan cairan dan mengalami dehidrasi. Pada kondisi ini konsentrasi larutan intraseluler dan ekstraseluler pada sel spermatozoa meningkat yang akan mengakibatkan kerusakan pada sel spermatozoa sehingga motilitas spermatozoa pun menurun. Sesuai dengan pendapat Sarastina, dkk (2012) kerusakan sel spermatozoa sebagai akibat metode pembekuan lambat adalah keluarnya air yang cukup banyak untuk mencapai keseimbangan potensial kimiawi intra dan ekstraseluler. Demikian juga dengan pendapat Toelihere (1993) bahwa sel spermatozoa yang rusak akan kehilangan daya geraknya dan tidak dapat dipulihkan kembali. Akibatnya sel mengalami dehidrasi konsentrasi larutan intraseluler meningkat dan sel spermatozoa menjadi rusak, sehingga persentase

motilitas spermatozoa menjadi lebih rendah. Dengan demikian penggunaan media pengencer susu segar disertai dengan kecepatan laju penurunan suhu pembekuan 5°C/menit menghasilkan persentase motilitas spermatozoa yang paling rendah.

Penggunaan media pengencer sitrat-kuning telur dengan kecepatan laju penurunan suhu pembekuan 10°C/menit pada penelitian ini menghasilkan persentase motilitas spermatozoa sapi Simental yang lebih tinggi yaitu 49,67 % dibanding persentase motilitas spermatozoa sapi Bali yaitu 42,67% (Farhana, 2015), maupun pada sapi Limousin yaitu 39,04% (Suhartati, 2015) masing-masing dengan perlakuan yang sama.

Lebih tingginya motilitas spermatozoa sapi Simental hasil penelitian ini pada perlakuan yang sama disebabkan rata-rata perolehan motilitas spermatozoa saat segar pun lebih tinggi yaitu 85,12% dibanding spermatozoa segar pada sapi Bali yaitu 78,30% maupun sapi Limousin dengan rata-rata motilitas spermatozoa segar sebesar 80,30%. Motilitas spermatozoa tersebut juga akan mempengaruhi persentase motilitas spermatozoa setelah pembekuan. Sesuai dengan pendapat Toelihere (1993) perbedaan jumlah rata-rata persentase motilitas spermatozoa pada saat semen segar akan mempengaruhi hasil dari rata-rata motilitas spermatozoa setelah pembekuan. Demikian juga pendapat Hafez (2000) bahwa semen segar yang akan digunakan harus mempunyai persentase motilitas individu minimal 65%, karena motilitas yang tinggi akan meningkatkan kemampuan spermatozoa dalam menggunakan media pengencer yang optimal, sehingga spermatozoa akan mempunyai daya tahan yang lebih tinggi pada saat proses pembekuan berlangsung.

2. Persentase spermatozoa hidup

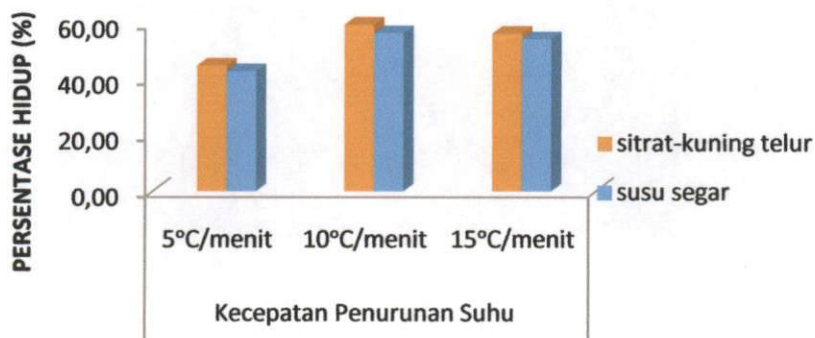
Hasil pengamatan pengaruh perlakuan kecepatan penurunan suhu $5^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ (B1), $10^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ (B2), dan $15^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ (B3) terhadap persentase spermatozoa hidup sapi Simental yang diencerkan dengan dua media pengencer yaitu sitrat-kuning telur (A1) dan susu segar (A2) dapat dilihat pada Tabel 6 dan diagramnya terdapat pada Gambar 2.

Tabel 6. Rataan Persentase Spermatozoa Hidup dari Dua Media Pengencer dengan Tiga Kecepatan Penurunan Suhu Pembekuan terhadap Semen Beku Sapi Simental

Faktor A	Faktor B ($^{\circ}\text{C}/\text{menit}$)			Jumlah	Rataan
	5	10	15		
Sitrat-kuning telur	45,00 ^d	58,67 ^a	56,50 ^b	161,17	53,72 \pm 7,72
Susu segar	43,00 ^c	49,17 ^b	48,00 ^c	154,17	51,39 \pm 7,35
Jumlah	88,00	116,33	111,00		
Rataan	44,00\pm1,41	58,17\pm2,12	55,50\pm1,41		

Keterangan : Superskrip dengan huruf kecil yang berbeda menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$). Superskrip dengan huruf kecil yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata ($P > 0,05$)

Hasil analisis keragaman (lampiran 3) menunjukkan bahwa terdapat interaksi berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) antara perlakuan media pengencer dengan kecepatan penurunan suhu pembekuan terhadap persentase spermatozoa hidup setelah pembekuan.



Gambar 2. Rataan persentase spermatozoa hidup pada dua macam media pengencer dengan tiga kecepatan penurunan suhu pembekuan pada semen sapi Simental.

Dari hasil uji lanjut berganda Duncan menunjukkan persentase spermatozoa hidup pada interaksi perlakuan A1 sangat nyata paling tinggi ($P < 0,01$) diikuti oleh perlakuan A2B2, A1B3, A2B3, A1B1, serta yang terendah pada perlakuan A2B1. Adapun pada perlakuan A2B2 menunjukkan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) terhadap A1B3. Ini menunjukkan pada penggunaan media pengencer sitrat-kuning telur dengan kecepatan penurunan suhu $10^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ menghasilkan persentase spermatozoa hidup paling tinggi dibandingkan dengan perlakuan yang lainnya.

Tingginya persentase spermatozoa hidup pada penggunaan media pengencer sitrat-kuning telur dengan kecepatan laju penurunan suhu pembekuan $10^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ (A1B2) disebabkan rendahnya titik beku pada media pengencer sitrat-kuning telur yakni -12°C (Herdiawan, 2004). Akibatnya proses pembentukan kristal es terjadi lebih lambat dan halus. Dengan rendahnya titik beku ini, sehingga dapat berpengaruh ketika proses penurunan suhu pembekuan pada spermatozoa dalam pembentukan kristal es, serta tingkat keseimbangan tekanan osmotik sebagai akibat perbedaan elektrolit intraseluler dan ekstraseluler sel spermatozoa. Akibatnya saat proses pembekuan semen dapat mencegah terjadinya dehidrasi sel spermatozoa sehingga dampak kerusakan sel spermatozoa secara fisik maupun secara kimiawi saat thawing dapat dikurangi sama seperti motilitas spermatozoa. Sesuai dengan pendapat Molova (1983) bahwa tingginya motilitas spermatozoa berdasarkan media pengencer yang dipakai dalam proses pembekuan semen, akibatnya berpengaruh tinggi juga terhadap jumlah spermatozoa yang hidup. Demikian juga pada Toelihere (1993) persentase spermatozoa hidup akan selalu lebih tinggi dibanding dengan motilitas spermatozoa. Kerusakan yang

ditemukan pada motilitas spermatozoa setelah dithawing tidak berdampak tinggi terhadap persentase spermatozoa hidup, sehingga persentase spermatozoa hidup dapat dipertahankan dan tetap tinggi.

Adapun pada kecepatan penurunan suhu pembekuan 10°C , lama waktu yang digunakan pada proses pembekuan yaitu selama 12,4 menit. Menyebabkan kerusakan pada sel membran spermatozoa dapat dikurangi dan reaksi zat warna eosin terhadap spermatozoa tidak dapat menyusup kedalam sel membran spermatozoa yang masih utuh. Hal ini sesuai dengan pendapat Salisbury dan Vandemark (1983) bahwa persentase spermatozoa hidup dapat dihitung dengan melihat reaksi spermatozoa terhadap zat warna tertentu. Demikian juga pendapat Partodihardjo (1992) bahwa sel-sel spermatozoa yang hidup akan sedikit sekali menghisap warna. Akibatnya persentase spermatozoa hidup dapat dipertahankan dan tetap tinggi. Dengan demikian penggunaan media pengencer sitrat-kuning telur disertai dengan kecepatan laju penurunan suhu pembekuan $10^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ menghasilkan persentase spermatozoa hidup yang paling tinggi.

Persentase spermatozoa hidup paling rendah diperoleh pada perlakuan media pengencer susu segar dan kecepatan penurunan suhu $5^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ (A2B1). Disebabkan karena titik beku media pengencer media susu segar lebih tinggi yakni sebesar $-0,5$ (Saleh, 2004). Akibat tingginya titik beku tersebut akan terjadi pembentukan kristal es yang lebih cepat dan kasar, sehingga terjadinya kerusakan sel-sel membran pelindung spermatozoa. Rusaknya sel-sel pelindung spermatozoa akan berpengaruh terhadap jumlah spermatozoa hidup yang menyebabkan spermatozoa mati dan tidak dapat dipulihkan kembali, sehingga persentase spermatozoa hidup menjadi rendah. Sesuai dengan pendapat Molova (1983)

bahwa rendahnya motilitas spermatozoa berdasarkan media pengencer yang dipakai dalam proses pembekuan semen akan berpengaruh rendah juga terhadap jumlah spermatozoa yang hidup. Sehingga pada kondisi ini persentase spermatozoa hidup mengalami penurunan dan hasilnya rendah.

Adapun lama waktu yang terpakai pada kecepatan penurunan suhu 5°C yaitu selama 24,8 menit dalam proses pembekuan. Proses pembekuan lambat ini mengakibatkan banyaknya air yang keluar untuk mencapai keseimbangan potensial kimiawi intraseluler dan ekstraseluler pada sel spermatozoa. Akibat dari banyaknya membran sel spermatozoa yang rusak ketika proses pembekuan maka pada saat pemberian pewarna eosin setelah dithawing terjadinya penyerapan warna yang tinggi terhadap sel spermatozoa yang rusak, sehingga persentase spermatozoa hidup menjadi rendah. Hal ini sesuai dengan pendapat Partodihardjo (1992) bahwa sel-sel yang mati menyerap zat warna karena permeabilitas dinding sel menjadi lebih tinggi setelah mati. Demikian juga pendapat Susilawati (2012) bahwa spermatozoa mati ditandai dengan meningkatnya permeabilitas sel spermatozoa yang berakibat kepada rusaknya sel pelindung spermatozoa. Akibat dari kerusakan tersebut akan mempermudahnya zat pewarna eosin masuk dan menyatu dengan sel spermatozoa tersebut, sehingga persentase spermatozoa hidup menurun. Dengan demikian penggunaan media pengencer susu segar disertai dengan kecepatan laju penurunan suhu pembekuan $5^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ menghasilkan persentase spermatozoa hidup yang paling rendah.

Persentase spermatozoa hidup pada penggunaan media pengencer sitrat-kuning telur dengan kecepatan laju penurunan suhu pembekuan $10^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ pada penelitian ini pada sapi Simental yakni 53,72% sama dengan persentase

spermatozoa hidup sapi Bali yaitu 53,78% (Farhana, 2015) tetapi lebih tinggi dibandingkan dengan persentase spermatozoa hidup pada sapi Limousin yakni 44,39% (Suhartati, 2015) masing-masing dengan perlakuan yang sama.

Tingginya persentase spermatozoa hidup sapi Simental dibanding sapi Limousin pada penelitian ini dengan perlakuan yang sama, disebabkan rata-rata perolehan pada spermatozoa hidup saat segar dan sapi Simental lebih tinggi yaitu 86,83% sementara pada spermatozoa hidup saat segar dari sapi Limousin yaitu 82,17%. Dengan perbedaan tersebut maka perolehan spermatozoa hidup setelah pembekuan dan thawing pun menghasilkan kualitas yang berbeda juga. Hasil penelitian ini sesuai dengan pendapat Toelihere (1993) perbedaan kualitas pada saat semen segar akan mempengaruhi hasil dari kualitas spermatozoa setelah pembekuan. Demikian juga Kusumawati, dkk (2014) perbedaan kualitas semen segar dengan semen beku juga dapat dipengaruhi oleh ketepatan penanganan pada saat melakukan pengolahan semen tersebut.

3. Abnormalitas Spermatozoa

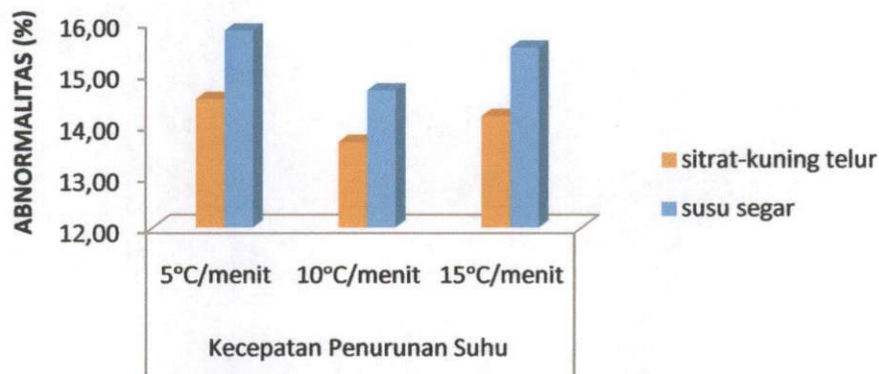
Hasil pengamatan pengaruh perlakuan kecepatan penurunan suhu $5^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ (B1), $10^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ (B2), dan $15^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ (B3) terhadap persentase abnormalitas sapi Simental yang diencerkan dengan dua media pengencer yaitu sitrat-kuning telur (A1) dan susu segar (A2) dapat dilihat pada Tabel 7 dan diagramnya terdapat pada Gambar 3.

Hasil analisis keragaman (lampiran 4) menunjukkan bahwa tidak terdapat Interaksi ($P>0,05$) antara perlakuan dua media pengencer dengan tiga kecepatan laju penurunan suhu pembekuan terhadap abnormalitas spermatozoa setelah pembekuan.

Tabel 7. Rataan Abnormalitas Spermatozoa dari Dua Media Pengencer dengan Tiga Kecepatan Penurunan Suhu Pembekuan Semen terhadap Semen Beku Sapi Simental

Faktor A	Faktor B (°C/menit)			Jumlah	Rataan
	5	10	15		
Sitrat-kuning telur	14,50	13,67	14,17	42,33 ^a	14,11±0,42
Susu segar	15,67	15,00	15,33	46,00 ^{ab}	15,33±0,60
Jumlah	30,33	28,33	29,67		
Rataan	15,17±0,94 ^{bc}	14,17±0,71 ^a	14,83±0,94 ^{ab}		

Keterangan : Superskrip dengan huruf kecil yang berbeda menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$). Superskrip huruf kecil yang sama berbeda tidak nyata ($P > 0,05$).



Gambar 3. Rataan persentase abnormalitas spermatozoa dua jenis media pengencer dengan tiga kecepatan penurunan suhu pembekuan pada semen sapi Simental.

Dari hasil uji lanjut berganda Duncan menunjukkan tidak terdapat interaksi berbeda nyata ($P > 0,05$) pada masing-masing perlakuan. Rataan persentase abnormalitas spermatozoa pada faktor A, media pengencer sitrat-kuning telur (A1) lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan media pengencer susu segar (A2). Pada faktor B, rata-rata persentase abnormalitas spermatozoa terendah diperoleh pada perlakuan kecepatan penurunan suhu pembekuan 10°C/menit (B2) serta diikuti pada kecepatan penurunan suhu pembekuan 15°C/menit (B3) serta kecepatan penurunan suhu 5°C/menit (B1).

Paling rendah rata-rata abnormalitas spermatozoa diperoleh pada perlakuan media pengencer sitrat-kuning telur dengan kecepatan laju penurunan suhu

10°C/menit (A1B2). Disebabkan pengencer sitrat-kuning telur merupakan media memiliki titik beku yang rendah dalam pembentukkan kristal es, sehingga menghasilkan kristal es yang halus (Herdiawan, 2004). Oleh sebab itu sel elektrolit intraseluler dan ekstraseluler spermatozoa mampu menjaga keseimbangan integritas motilitas spermatozoa sehingga mencegah tekanan osmotik yang hipotonis serta cengkaman dingin (*cold shock*) terhadap membran sel pada saat proses pembekuan maupun pasca thawing. Akibatnya abnormalitas spermatozoa yang dihasilkan rendah. Sesuai dengan pendapat Salamon dan Maxwell (1995) bahwa keseimbangan sel elektrolit intraseluler dan ekstraseluler spermatozoa dapat mengurangi kerusakan sel membran pada spermatozoa. Akibatnya efek negatif saat pembekuan spermatozoa dapat dikurangi, sehingga kelainan morfologi spermatozoa lebih rendah.

Adapun pada kecepatan penurunan suhu pembekuan 10°C/menit dengan waktu selama 12,4 menit. Menyebabkan kerusakan pada mitokondria serta penyusutan cairan yang ada pada sel spermatozoa dapat dikurangi. Hal ini diakibatkan karena waktu pembekuan spermatozoa berada pada standar waktu pembekuan secara manual yakni berkisar antara 9-13 menit di atas uap cair nitrogen. Sesuai dengan pendapat Arifiantini, dkk (2007) standar lama proses pembuatan semen beku berkisar antara 9-13 menit yang dilakukan secara manual di atas permukaan nitrogen cair. Demikian juga pendapat Salamon dan Maxwell (1995) bahwa efek pembekuan dengan laju penurunan suhu optimum dapat mengurangi kelainan dari morfologi spermatozoa. Pada kondisi ini tingkat abnormalitas spermatozoa dapat dikurangi sehingga kelainan morfologi spermatozoa lebih rendah dan dapat dipertahankan. Dengan demikian penggunaan

media pengencer sitrat-kuning telur yang disertai dengan kecepatan penurunan suhu pembekuan $10^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ menghasilkan persentase abnormalitas spermatozoa paling rendah.

Persentase ratann abnormalitas spermatozoa paling tinggi diperoleh pada perlakuan media pengencer susu segar dengan kecepatan laju penurunan suhu pembekuan $5^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ (A2B1) disebabkan terjadinya fluktuasi perubahan suhu pembekuan pada saat *thawing* yang dapat mengurangi proporsi spermatozoa motil, dan menyebabkan kerusakan struktural biokimia dan fungsional sel spermatozoa. Meskipun ada perlindungan dari lipoprotein yang terdapat di dalam susu segar, namun semakin lama media pun juga semakin menurun fungsinya bagi spermatozoa dalam melawan cengkaman dingin (*cold shock*). Sesuai dengan pendapat Damayanti (1991) bahwa rendahnya perlindungan media pengencer berakibat semakin banyak spermatozoa yang abnormal seperti ekor melingkar atau kepala putus dan lain-lain, semua ketidak normal tersebut dapat disebabkan oleh keadaan osmotik di sekitarnya. Dengan demikian pada penggunaan media pengencer susu segar mempunyai perlindungan yang rendah terhadap spermatozoa, sehingga menghasilkan abnormalitas spermatozoa yang tinggi.

Adapun pada kecepatan penurunan suhu pembekuan $5^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ dengan waktu yang lambat yakni 24,8 menit menyebabkan terjadinya pembengkakan mitokondria serta penyusutan spermatozoa yang disebabkan keluarnya cairan dari badan sel spermatozoa, sehingga jumlah spermatozoa yang abnormal menjadi lebih banyak. Akibatnya terjadi tekanan osmotik hipotonis yang tinggi sehingga spermatozoa mengalami pembengkokkan pada leher (*neck bent/ bent spermatozoa*) serta ekor menggulung. Hal ini sesuai dengan pendapat Pacc, dkk

(1981) bahwa pembengkakan pada mitokondria sel serta penyusutan cairan dalam sel spermatozoa menyebabkan spermatozoa menjadi bengkok, leher patah serta ekor menggulung. Dengan demikian persentase abnormalitas spermatozoa menjadi tinggi. Dengan demikian penggunaan media pengencer susu segar yang disertai dengan kecepatan penurunan suhu pembekuan $5^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ menghasilkan persentase abnormalitas spermatozoa paling tinggi.

Penggunaan media pengencer sitrat-kuning telur dengan kecepatan penurunan suhu pembekuan $10^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ menghasilkan persentase abnormalitas spermatozoa sapi Simental lebih rendah yakni 13,67% jika dibandingkan dengan sapi Bali yakni sebesar 17,67% (Farhana, 2015) maupun pada sapi limousin yakni sebesar 14,83% (Suhartati, 2015).

Rendahnya persentase abnormalitas spermatozoa sapi Simental yang diperoleh dalam penelitian ini disebabkan karena perbedaan abnormalitas spermatozoa saat segar pada sapi Simental lebih rendah dengan rata-rata yaitu 10,83% dibanding abnormalitas spermatozoa segar pada sapi Bali yaitu 13,03% maupun sapi Limousin dengan rata-rata abnormalitas spermatozoa yaitu 11,17% dan disertai dengan ketepatan dalam penanganannya sebelum dan setelah pembekuan. Sesuai pendapat Kusumawati, dkk (2014) perbedaan kualitas semen segar dengan semen beku juga dapat dipengaruhi oleh ketepatan penanganan pada saat melakukan pengolahan semen tersebut.

4. Membran Plasma Utuh Spermatozoa

Hasil pengamatan pengaruh perlakuan kecepatan penurunan suhu $5^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ (B1), $10^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ (B2), dan $15^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ (B3) terhadap persentase Membran Plasma Utuh sapi Simental yang diencerkan dengan dua media

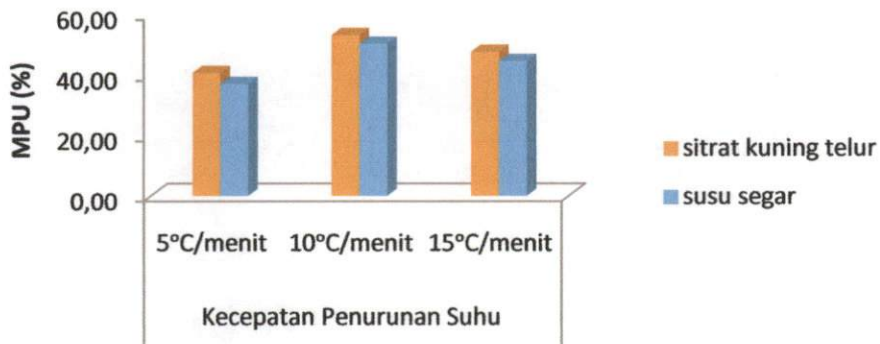
pengencer yaitu sitrat-kuning telur (A1) dan susu segar (A2) dapat dilihat pada Tabel 8 dan diagramnya terdapat pada Gambar 4.

Tabel 8. Rataan Membran Plasma Utuh Spermatozoa pada Dua Media Pengencer dengan Tiga Kecepatan Penurunan Suhu Pembekuan terhadap Semen Beku pada Sapi Simental

Faktor A	Faktor B (°C/menit)			Jumlah	Rataan
	5	10	15		
Sitrat kuning telur	40,77 ^c	53,17 ^a	47,67 ^b	141,60	47,20±6,21
Susu segar	37,17 ^f	46,33 ^c	44,67 ^d	132,17	44,06±6,60
Jumlah	77,93	103,50	92,33		
Rataan	38,97±2,25	51,75±2,00	46,17±2,12		

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

Hasil analisis keragaman (lampiran 5) menunjukkan bahwa terdapat interaksi berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) antara perlakuan dua media pengencer dengan tiga kecepatan laju penurunan suhu pembekuan terhadap membran plasma utuh setelah pembekuan.



Gambar 4. Rataan persentase membran plasma utuh spermatozoa pada dua media pengencer dengan tiga kecepatan penurunan suhu pembekuan pada semen sapi Simental

Dari hasil uji lanjut berganda Duncan menunjukkan persentase membran plasma utuh spermatozoa pada interaksi perlakuan A1B2 sangat nyata paling tinggi ($P < 0,01$) diikuti oleh perlakuan A1B3, A2B2, A2B3, A1B1 serta yang

terendah terdapat pada perlakuan A2B1. Ini menunjukkan pada penggunaan media pengencer sitrat-kuning telur menghasilkan persentase membran plasma utuh paling tinggi di bandingkan dengan perlakuan lainnya.

Persentase membran plasma utuh paling tinggi diperoleh pada media pengencer sitrat-kuning telur dengan kecepatan laju penurunan suhu $10^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ (A1B2), disebabkan karena pengencer sitrat-kuning telur merupakan jenis pengencer yang memiliki titik beku lebih rendah yakni -12°C (Herdiawan, 2004). Dengan demikian proses pembentukan kristal es pada perlakuan jenis pengencer sitrat-kuning telur terjadi lebih lambat dengan ukuran kristal yang halus. Akibatnya dapat mencegah terjadinya proses dehidrasi sel spermatozoa selama proses pembekuan berlangsung dan pasca thawing, sehingga tingkat keseimbangan konsentrasi elektrolit intraseluler dengan ekstraseluler membran sel tidak mengalami perbedaan yang jauh serta kerusakan membran sel spermatozoa dapat dikurangi akibatnya membran plasma spermatozoa tetap utuh. Sesuai dengan pendapat Molova (1983) perbedaan tingkat elektrolit yang rendah di dalam dan di luar sel menunjukkan adanya keseimbangan, sehingga permeabilitas dinding sel dapat dipertahankan selama proses pembekuan berlangsung. Pada kondisi ini kerusakan sel membran plasma dapat dikurangi sehingga keutuhan membran sel tinggi dan dapat dipertahankan.

Adapun sel spermatozoa yang dibekukan dengan kecepatan laju penurunan suhu pembekuan $10^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ dengan lama waktu 12,4 menit akan membentuk keseimbangan elektrolit sel intraseluler dan ekstraseluler, sehingga selaput membran sel tidak pecah. Akibatnya kerusakan sel membran plasma utuh spermatozoa tidak terlalu tinggi saat pembekuan, dan substansi kimia sel

spermatozoa yang keluar tidak banyak. Sesuai dengan pendapat Herdiawan (2004) bahwa kerusakan pada membran plasma akan berpengaruh terhadap daya tahan hidup spermatozoa dan motilitas spermatozoa. Begitu juga dengan yang disampaikan Nuranti (2005) bahwa seimbangnya tingkat elektrolit sel intraseluler dan ekstraseluler pada spermatozoa tidak berdampak kerusakan yang tinggi terhadap membran plasma utuh spermatozoa saat pembekuan dan setelah dithawing. Pada kondisi yang demikian kerusakan sel membran pada spermatozoa dapat dikurangi saat pembekuan, sehingga kualitas membran plasma spermatozoa tetap utuh dan dapat dipertahankan. Dengan demikian penggunaan media pengencer sitrat-kuning telur disertai dengan laju penurunan suhu pembekuan $10^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ menghasilkan persentase membran plasma utuh yang tinggi.

Persentase membran plasma utuh spermatozoa paling rendah terdapat pada media pengencer susu segar dengan kecepatan laju penurunan suhu pembekuan $5^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ (A1B2). Disebabkan karena titik beku pada jenis pengencer media susu segar tinggi yakni $-0,5^{\circ}\text{C}$ (Saleh, 2004). Akibatnya kerusakan membran sel pada saat proses pembekuan terjadi lebih tinggi. Hal ini terjadi karena tidak seimbangnya konsentrasi cairan intraseluler dengan ekstraseluler, dan menimbulkan perubahan tekanan osmotik sel selama pembekuan. Akibatnya selubung lipoprotein pecah membuat membran sel mengalami kerusakan yang disertai dengan substansi kimia sel sperma keluar sehingga menyebabkan terjadinya penurunan kualitas membran plasma utuh yang tinggi. Hal ini sesuai dengan pendapat Molova (1983) bahwa terjadinya kerusakan membran sel pada spermatozoa disebabkan karena tidak seimbangnya tingkat konsentrasi elektrolit didalam dan diluar sel sehingga permeabilitas dinding sel menjadi pecah. Oleh

karena itu membran plasma utuh spermatozoa akan mengalami kerusakan dan terjadi penurunan terhadap kualitas membran plasma utuh.

Adapun sel spermatozoa yang dibekukan dengan metode lambat $5^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ dengan lama waktu 24,8 menit akan membentuk kristal es intraseluler yang akan mendesak membran sel ke segala arah, sehingga selaput membrannya pecah dan substansi kimia sel spermatozoa keluar. Rusaknya membran plasma akan mempengaruhi juga terhadap daya tahan hidup spermatozoa serta motilitas spermatozoa. Sesuai dengan pendapat Herdiawan (2004) bahwa kerusakan pada membran plasma akan berpengaruh terhadap daya tahan hidup spermatozoa dan motilitas spermatozoa. Begitu juga dengan yang disampaikan Nuranti (2005) bahwa rusaknya keutuhan sel membran pada spermatozoa mengakibatkan terjadinya penurunan kualitas spermatozoa sehingga berpengaruh juga terhadap motilitas spermatozoa dan spermatozoa hidup. Pada kondisi demikian, kerusakan sel membran plasma pada spermatozoa yang tinggi menyebabkan terjadinya penurunan kualitas keutuhan membran plasma spermatozoa serta persentase membran plasma utuh spermatozoa menjadi rendah. Dengan demikian penggunaan media pengencer susu segar disertai dengan laju penurunan suhu pembekuan $5^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ menghasilkan persentase membran plasma utuh yang rendah.

Penggunaan media pengencer sitrat-kuning telur dengan kecepatan laju penurunan suhu pembekuan $10^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ pada penelitian ini menghasilkan persentase membran plasma utuh spermatozoa sapi Simental yang lebih tinggi yaitu 53,17% dibanding persentase membran plasma utuh spermatozoa sapi Bali yaitu 38,33% (Farhana, 2015), maupun pada sapi Limousin yaitu 40,50%

(Suhartati, 2015). Adapun perbedaan yang diperoleh dipengaruhi oleh kualitas membran plasma utuh saat segar pada sapi Simental lebih tinggi yaitu 84,33% dibanding membran plasma utuh pada sapi Bali yaitu 82,30% juga pada sapi limousin yaitu 80,33% serta dipengaruhi juga ketepatan penanganannya sebelum dilakukan pembekuan. Sesuai dengan pendapat Kusumawati, dkk (2014) perbedaan kualitas semen segar dengan semen beku juga dapat dipengaruhi oleh ketepatan penanganan pada saat melakukan pengolahan semen tersebut.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini disimpulkan bahwa terdapat interaksi sangat nyata ($P < 0,01$) antara media pengencer dengan kecepatan laju penurunan suhu pembekuan terhadap kualitas semen beku sapi Simental yang meliputi persentase motilitas spermatozoa sesudah thawing, persentase spermatozoa hidup, dan membran plasma utuh tetapi tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) terhadap abnormalitas spermatozoa sapi Simental.

Penggunaan media pengencer sitrat-kuning telur dengan kecepatan laju penurunan suhu pembekuan $10^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ memberikan hasil yang sangat baik dengan rataan motilitas spermatozoa setelah thawing yaitu $54,01\%$ yang disertai dengan persentase spermatozoa hidup yaitu $59,67\%$ membran plasma utuh yaitu $53,17\%$ juga pada abnormalitas spermatozoa yaitu $13,67\%$ terhadap kualitas Semen beku sapi Simental.

B. Saran

Berdasarkan hasil dari penelitian ini disarankan untuk membuat semen beku pada semen sapi Simental dengan menggunakan media pengencer sitrat kuning telur disertai dengan kecepatan penurunan suhu $10^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ agar dapat menghasilkan kualitas semen beku sapi Simental yang sangat baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifiantini, R.I. Kacker dan Panwar . 2007. Kaji Banding Kualitas Semen Beku Sapi Friesian Holstein menggunakan Pengencer dari Berbagai Balai Inseminasi Buatan di Indonesia. *Animal Production*, Vol. 7, No. 3, September 2005: 168 – 176.
- _____ dan B. Purwantara. 2010. Motility and Viability of Friesian Holstein Spermatozoa In Three Different Extender Stored At 5oC. *Jurnal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*. Vol. 35 No. 4 Desember 2010.
- _____. 2012. Teknik Koleksi dan Evaluasi Semen pada Hewan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Blakely, J. dan D.H. Bade. 1998. Ilmu Peternakan. Yogyakarta: UGM Press.
- Bearden, H. J. and J. W Fuquay. 1984. *Applied Animal Reproduction*. 2nd edition. Reston Publishing Company, Inc, Virginia.
- Damayanti, Y. 1991. Pengaruh kadar Glukosa Dalam Pengencer Air Kelapa Muda, Air Siwalan dan Kombinasinya Dengan Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Ayam Buras. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Farhana, A. 2015. Pengaruh Kecepatan Penurunan Suhu Pembekuan dan Medium Pengencer (*Tris-Sitrat Kuning Telur dan Tris-Sitrat Susu Kedelai*) Terhadap Kualitas Semen Beku Pasca *Thawing* pada Sapi Bali. Fakultas Peternakan. Universitas Andalas. Padang.
- Feradis. 2010. Bioteknologi Reproduksi Pada Ternak. Bandung: Alfabeta.
- Garner, D. L and E.S.E. Hafez. 2000. *Spermatozoa and seminal plasma Reproduction in farm animals*. 7th edition by E. S. E. Hafez and B. Hafez. Lippincott Williams and Wilkins. Philadelphia.
- Gazali, M.S., T. Natal. 2002. Ulasan Kriopreservasi Spermatozoa. *J. Hayati*. 9:27-32.
- Hafez, E.S.E. 2000. *Semen Evaluation in Reproduction In Farm Animals*. 7th edition. Lippincott Williams and Wilkins. Maryland, USA.
- Hardijanto, S. Susilowati, Sardjito, T. Hermawati, dan T.W. Suprayogi. 2008. *Penuntun Praktikum Fisiologi dan Teknologi Reproduksi (Inseminasi Buatan)*. Fakultas Kedokteran Hewan. Airlangga University Press. Surabaya.
- Herdiawan. 2004. Pengaruh Laju Penurunan Suhu dan Jenis Pengencer Terhadap Kualitas Semen Beku Domba Pariangan. *JITV*. 9 (2) :98-107.

- Jones, R.C and T. Mann. 1977. Toxicity of exogenous fatty acid peroxides towards spermatozoa. *J. Reprod. Fertil.*, 50:255-260.
- Kementrian Pertanian RI.2007. Pedoman Pelaksanaan IB pada Ternak Sapi. Jakarta Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan.
- Kusumawati, E.D,W., H. Leondro.2014. Pengaruh Pengencer yang berbeda terhadap Kualitas Semen sexing pada sapi Limousin. *Jurnal Tropika* Vol. 8 No. 1 Juni 2007: 43-51.
- Lestari,S., D. M. Saleh, dan Maidaswar.2013.Profil Kualitas Semen Segar Sapi Pejantan Limousin dengan Umur yang Berbeda diBIB Lembang Jawa Barat. *J. Ilmiah Peternakan* 1(3):1165-1172.
- Lindsay, D.R., K.W. Entwistle and A. Winante.1982. Reproduction in Domestic Livestock in Indonesia. Australia University. Queensland.
- Mahmilia, F., Doloksaribu, M. dan Pamungkas, F.A. 2006. *Karakteristik Semen Kambing Boer*. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner 2006.
- Maxwell.2000. *Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats*. London:Butterworths.
- Molova .1983. Tris based diluent I. Improved Protective effect on acrosome integrity in frozen storage of ram semen processing, freezing, thawing, and fertility after cervical insemination. Salamon and Maxwell (Ed). Department of Science, University of Sidney, Australia. p.216.
- Nuranti.2005. Pengaruh penambahan Heparin pada Level yang berbeda terhadap Kulit Semen Cair Pada Kambing Boer Hasil Pemisahan Spermatozoa X dan Y. Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Pacc, M.M., J.J. Sullivan, F.I. Elliot, E.T. Graham and G.H. Coulter. 1981. Effect of thawing temperature, number of spermatozoa, and spermatozoa quality on fertility of bovine spermatozoa. Poulkage in 5 ml French straw. *J. Anim. Sci.* 53: 693-701.
- Park, C.S, dan V.G. Pursel. 1985. Effect of freezing rate on boar sperm frozen in maxi-straw. *J. Anim. Sci.* 61 : 44.
- Partodihardjo, S. 1992. Ilmu Reproduksi Hewan Cetakan ke-3. Mutiara Sumber Widya, Jakarta.
- Parrish, J. 2003. Techniques in Domestic Animal Reproduction - Evaluation and Freezing of Semen. http://www.wisc.edu/ansci_repro/ 25 juli 2003.
- Prasetyo,A.A.2013. Kualitas Semen Beku Kambing Saanen pada berbagai jenis Pengencer Semen. 1(3):907-913.
- Salamon, S dan W.M.C. Maxwel.1995. Frozen Storage of Ram Semen Processing, Freezing, Thawing, and fertility after cervical Insemination. *Anim. Repro. Sci.* 37:85-99.

- Saleh, E.(2004). Dasar Pengolahan Susu dan Hasil Ikutan Ternak. Fakultas Pertanian. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Salisbury, G.W,dan N.L. Vandemark., 1985. Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan Pada Sapi. Terjemahan. Judul Asli : (Physiology of Reproduction and Artificial Insemination of Cattle), Penerjemah : Djanuar, R.,(Ed), Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Sarastina,T. Susilawati, dan G. Ciptadi.2012. Analisa Beberapa Parameter Motilitas Spermatozoa pada Berbagai Bangsa Sapi Menggunakan Computer Assisted Semen Analysis (CASA).J.Ternak Tropikal 6(2):1-12.
- Solihati, N dan K.Petrus . (2011). Pengaruh Jenis Pengencer terhadap Motilitas dan Daya Tahan Hidup Spermatozoa Semen Cair Sapi Simental. Fakultas Peternakan Universitas Padjajaran Bandung dan Universitas Nusa Cendana Kupang.
- Steel,R.G.D, dan J.H.Torrie.1991.Prinsip dan Prosedur Statistik suatu Pendekatan Biometrik. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Suhartati, L.2015. Pengaruh Kecepatan Penurunan Suhu pada Medium Pengencer Susu Segar dan Tris Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Limousin. Fakultas Peternakan. Universitas Andalas. Padang.
- Supriatna.I. dan H.P. Fachriyan.1992. In Vitro Fertilisasi,Transfer Embrio dan pembekuan Embrio.PAU-Bioteknologi IPB.Bogor.hlm.35-48.
- Susilawati, T., P. Srianto, Hermanto dan E. Yuliani.2003. Inseminasi Buatan Dengan Spermatozoa Beku Hasil Sexing Pada Sapi Untuk Mendapatkan Anak Dengan Jenis Kelamin Sesuai Harapan. Laporan Penelitian. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, Malang.
- _____.2011. Tingkat Keberhasilan Kebuntingan dan Ketepatan Jenis Kelamin Hasil Inseminasi Buatan Menggunakan Semen Beku Sexing Pada Sapi Peranakan Ongole. Jurnal Animal Production Vo. 7. No. 3. September 2011; 161-167.
- Talib, C. dan A.R. Siregar. 1999. Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan pedet PO dan crosbreednya dengan Bos indicus dan Bos taurus dalam pemeliharaan tradisional. Proc. Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner 1-2 Desember 1998. hal. 200-207.
- Tambing,S.N.,M.R.Toelihere,T.Yusuf,I.K.Sutama. 2001. Kualitas semen beku kambing peranakan Etawah setelah ekuilibrasi. Hayati 8:70-75.
- Toelihere,M.R.1993.Inseminasi Buatan Pada Ternak.Angkasa Bandung
- Yulianto dan Suprianto. 2010. In Vitro Fertilisasi, Tansfer Embrio dan Pembekuan Embrio. PAU Bioteknologi IPB. Bogor. hlm. 35-48.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil evaluasi Semen Segar Sapi Simental

No	Penilaian	Penampungan			Nilai Rataan
		1	2	3	
1	Makroskopis				
	Volume(ml)	7,3	8,4	6,5	7,4±0,95
	Warna	K	K	K	K
	Konsistensi	kental	kental	sedang	
	pH	7	7	7	
	Bau	N	N	N	N
2	Mikroskopis				
	Gerakan masa	+++	+++	++	+++
	Konsentrasi 10 ⁷	270	260	240	256,67±15,28
	Spermatozoa hidup	88,50	86,50	85,50	86,83±1,53
	Motilitas	86,34	85,73	83,28	85,12±1,62
	Abnormalitas	10,00	11,30	11,50	10,93±0,81
	MPU	85,50	84,50	83,00	84,33±1,26

Keterangan :

- 1. K : krem
- 2. N : normal
- 3. ++ : progresif
- 4. +++ : sangat progresif

Lampiran 2. Uji Statistik Motilitas Semen Beku Sapi Simental

Faktor A	Kelompok	Faktor B			Total	SD
		5C/M	10C/M	15C/M		
Sitrat-Kuning Telur	1.00	45.23	55.22	52.55	153.00	
	2.00	43.30	54.32	51.50	149.12	
	3.00	42.10	52.50	50.35	144.95	
	JUMLAH	130.63	162.04	154.40	447.07	
	RATAAN	43.54	54.01	51.47	149.02	5.46
Susu Segar	1.00	39.50	47.70	44.60	131.80	
	2.00	38.22	44.10	42.35	124.67	
	3.00	37.50	41.20	39.73	118.43	
	JUMLAH	115.22	133.00	126.68	374.90	
	RATAAN	38.41	44.33	42.23	124.97	3.00
	JUMLAH	245.85	295.04	281.08	821.97	
	RATAAN	40.98	49.17	46.85		
	SD	3.63	6.84	6.53		

$$FK = \frac{821,97^2}{18} = 37535.26$$

$$JKT = (45,23^2 + \dots + 39,73^2) - FK = 568.79$$

$$JKP = \frac{(130,63^2 + \dots + 154,40^2)}{3} - FK = 522.40$$

$$JKA = \frac{(447,07^2 + 374,90^2)}{9} - FK = 289.36$$

$$JKB = \frac{(245,85^2 + 295,04^2 + 281,08^2)}{6} - FK = 214.21$$

$$JKAB = JKP - JKA - JKB = 18.84$$

$$JKK = \frac{(153,00 + 131,80)^2 + \dots + (131,80 + 118,43)^2}{6} - FK = 38.24$$

$$JKS = JKT - JKP - JKK = 8.14$$

$$KTK = JKK / dbK = \frac{38.24}{2} = 19.12$$

$$KTP = JKP / dbP = \frac{522.40}{5} = 104.48$$

$$KTG = JKS / dbG = \frac{8.14}{10} = 0,81$$

$$KTA = JKA / dbA = \frac{289.36}{1} = 289.36$$

$$KTB = JKB/dbB = \frac{214.21}{2} = 107.10$$

$$KTAB = JKAB/dbAB = \frac{18.84}{2} = 9,42$$

$$SE = \sqrt{\frac{KTG}{r}} = \sqrt{\frac{0,81}{3}} = 0.52104702$$

Tabel Sidik Ragam

SK	DB	JK	KT	FHIT	F.Tab	
					0.05	0.01
Kelompok	2	38.24	19.12	23.48**	4.1	7.56
Perlakuan	5	522.40	104.48	128.28**	3.48	5.99
A	1	289.36	289.36	355.28**	4.96	10.04
B	2	214.21	107.10	131.50**	4.1	7.56
AXB	2	18.84	9.42	11.56**	4.1	7.56
Sisa	10	8.14	0.81			
Total	17	568.79				

Keterangan :

- Ns (Non signifikan) : Apabila Taraf < 5%
 * (Berbeda nyata) : Apabila Taraf >5% dan <1%
 ** (Berbeda sangat nyata) : Apabila Taraf >5% dan >1%

Uji Lanjut Faktor A

P	SE	SSR 0,05	SSR 0,01	LSR 0,05	LSR 0,01
2	0.52	3.15	4.48	1.5435	2.1952

Urutan dari terbesar ke yang terkecil

A1	A2
49.67	44.88

Perbandingan Selisih Rataan

Perbandingan selisih	LSR 0,05	LSR 0,01	Ket
A1-A2	4.79	3.087	4.3904 **

Uji lanjut Faktor B

P	SE	SSR 0,05	SSR 0,01	LSR 0,05	LSR 0,01
2	0.52	3.15	4.48	1.5435	2.1952
3	0.52	3.3	4.73	1.617	2.3177

Urutan yang terbesar ke yang terkecil

B2	B3	B1
51.67	49.18	40.98

Perbandingan selisih rata-rata Faktor B

Perbandingan	Selisih	LSR 0,05	LSR 0,01	Ket
B2-B3	2.49	3.087	4.3904	ns
B2-B1	10.69	4.851	6.9531	**
B3-B1	8.2	3.087	4.3904	**

Tabel SSR dan LSR

Perlakuan	Selisih	SSR		LSR	
		5%	1%	5%	1%
2	0.521047023	3.15	4.48	1.641298122	2.334290662
3	0.521047023	3.30	4.73	1.719455175	2.464552418
4	0.521047023	3.37	4.88	1.755928467	2.542709471
5	0.521047023	3.43	4.96	1.787191288	2.584393233
6	0.521047023	3.46	5.06	1.802822699	2.636497936

Urutan rata-rata perlakuan dari yang terbesar ke yang terkecil

A1B2	A1B3	A2B2	A1B1	A2B3	A2B1
54,01	51,47	44,33	43,54	42,23	40,98

Perlakuan	Selisih	LSR		KETERANGAN
		5%	1%	
A1B2-A1B3	2.55	1.6412981	2.3342907	**
A1B2-A2B2	9.68	1.7194552	2.4645524	**
A1B2-A2B3	11.79	1.7559285	2.5427095	**
A1B2-A1B1	10.47	1.7871913	2.5843932	**
A1B2-A2B1	15.61	1.8028227	2.6364979	**
A1B3-A2B2	7.13	1.6412981	2.3342907	**
A1B3-A2B3	9.24	1.7194552	2.4645524	**
A1B3-A1B1	7.92	1.7559285	2.5427095	**
A1B3-A2B1	13.06	1.7871913	2.5843932	**
A2B2-A2B3	2.11	1.6412981	2.3342907	**
A2B2-A1B1	0.79	1.7194552	2.4645524	**
A2B2-A2B1	5.93	1.7559285	2.5427095	**
A2B3-A1B1	1.32	1.6412981	2.3342907	ns
A2B3-A2B1	3.82	1.7194552	2.4645524	**
A1B1-A2B1	5.14	1.6412981	2.3342907	**

Keterangan :

* (Berbeda nyata) : Apabila Taraf >5% dan <1%

** (Berbeda sangat nyata) : Apabila Taraf >5% dan >1%

A1B2^a A1B3^b A2B2^c A2B3^d A1B1^{de} A2B1^e

Lampiran 3. Uji Statistik Persentase Hidup Semen Beku Sapi Simental

Faktor A	Kelompok	Faktor B			Total	SD
		5C/M	10C/M	15C/M		
Sitrat-Kuning Telur	1.00	47.50	60.00	57.00	164.50	
	2.00	44.50	58.50	57.50	160.50	
	3.00	43.00	57.50	55.00	155.50	
	JUMLAH	135.00	176.00	169.50	480.50	
	RATAAN	45.00	58.67	56.50	160.17	7.35
Susu Segar	1.00	44.50	52.50	50.50	147.50	
	2.00	43.00	49.50	47.50	140.00	
	3.00	41.50	45.50	46.00	133.00	
	JUMLAH	129.00	147.50	144.00	420.50	
	RATAAN	43.00	49.17	48.00	140.17	3.28
	JUMLAH	264.00	323.50	313.50	901.00	
	RATAAN	44.00	53.92	52.25		
	SD	1.41	6.72	6.01		

$$FK = \frac{901,00^2}{18} = 45100.06$$

$$JKT = (47,50^2 + \dots + 46,00^2) - FK = 644.94$$

$$JKP = \frac{(135,00^2 + \dots + 169,50^2)}{3} - FK = 588.11$$

$$JKA = \frac{(480,50^2 + 420,50^2)}{9} - FK = 200.00$$

$$JKB = \frac{(264,00^2 + 323,50^2 + 313,50^2)}{6} - FK = 338.36$$

$$JKAB = JKP - JKA - JKB = 1,00$$

$$JKK = \frac{(164,50 + 147,50)^2 + \dots + (147,50 + 133,00)^2}{6} - FK = 46.03$$

$$JKS = JKT - JKP - JKK = 10.81$$

$$KTK = JKK / dbK = \frac{40,03}{2} = 23.01$$

$$KTP = JKP / dbP = \frac{588.11}{5} = 117.62$$

$$KTG = JKS / dbG = \frac{10.81}{10} = 1.08$$

$$KTA = JKA / dbA = \frac{200.00}{1} = 200.00$$

$$KTB = JKB/dbB = \frac{338.36}{2} = 169.18$$

$$KTAB = JKAB/dbAB = \frac{49.75}{2} = 24.88$$

$$SE = \sqrt{\frac{KTG}{r}} = \sqrt{\frac{1.08}{3}} = 0,600154301$$

Tabel Sidik Ragam

SK	DB	JK	KT	FHIT	F.Tab	
					0.05	0.01
Kelompok	2	46.03	23.01	21.30**	4.1	7.56
Perlakuan	5	588.11	117.62	108.85**	3.48	5.99
A	1	200.00	200.00	185.09**	4.96	10.04
B	2	338.36	169.18	156.57**	4.1	7.56
AXB	2	49.75	24.88	23.02**	4.1	7.56
Sisa	10	10.81	1.08			
Total	17	644.94				

Keterangan :

- ns (Non signifikan) : Apabila Taraf < 5%
 * (Berbeda nyata) : Apabila Taraf >5% dan <1%
 ** (Berbeda sangat nyata) : Apabila Taraf >5% dan >1%

Uji lanjut Faktor A

P	Selisih	SSR 0.05	SSR 0.01	LSR 0.05	LSR 0.01
2	0,49	3.15	4.48	1.5435	2.1952

Urutan terbesar ke yang terkecil

A1	A2
53.72	51.39

Selisih rataan faktor A

Perbandingan	Selisih	LSR 0.05	LSR 0.01	Ket
A1-A2	2.33	3.3.087	4.3904	ns

Uji lanjut faktor B

P	SE	SSR 0,05	SSR 0,01	LSR 0,05	LSR 0,01
2	0.49	3.15	4.48	1.5435	2.1952
3	0.49	3.3	4.73	1.617	2.3177

Urutan terbesar ke yang terkecil

B2	B3	B1
58.17	55.5	44

Selisih rata-rata faktor B

Perbandingan	Selisih	LSR 0,05	LSR 0,01	Ket
B2-B3	2.67	3.087	4.3904	ns
B2-B1	14.17	4.851	6.9531	**
B3-B1	11.5	3.087	4.3904	**

Tabel SSR dan LSR

Perlakuan	Selisih	SSR		LSR	
		5%	1%	5%	1%
2	0.600154301	3.15	4.48	1.89048605	2.688691
3	0.600154301	3.30	4.73	1.98050919	2.83873
4	0.600154301	3.37	4.88	2.02251999	2.928753
5	0.600154301	3.43	4.96	2.05852925	2.976765
6	0.600154301	3.46	5.06	2.07653388	3.036781

Urutan rata-rata perlakuan dari yang terbesar ke yang terkecil

A1B2	A1B3	A2B2	A2B3	A1B1	A2B1
58,67	56,50	49,17	48,00	45,00	43,00

Perlakuan	Selisih	LSR		Keterangan
		5%	1%	
A1B2-A1B3	9.50	1.89048605	2.688691269	**
A1B2-A2B2	2.17	1.98050919	2.838729844	**
A1B2-A2B3	10.67	2.02251999	2.92875299	**
A1B2-A1B1	13.67	2.05852925	2.976765334	**
A1B2-A2B1	15.67	2.07653388	3.036780764	**
A1B3- A2B2	1.33	1.89048605	2.688691269	ns
A1B3-A2B3	7.17	1.98050919	2.838729844	**
A1B3-A1B1	4.17	2.02251999	2.92875299	**
A1B3-A2B1	6.17	2.05852925	2.976765334	**
A2B2-A2B3	8.50	1.89048605	2.688691269	**
A2B2-A1B1	11.50	1.98050919	2.838729844	**
A2B2-A2B1	13.50	2.02251999	2.92875299	**
A2B3-A2B1	3.00	1.89048605	2.688691269	**
A2B3-A2B2	5.00	1.98050919	2.838729844	**
A1B1-A2B1	2.00	1.89048605	2.688691269	**

Keterangan :

- Ns (Non signifikan) : Apabila Taraf < 5%
 * (Berbeda nyata) : Apabila Taraf >5% dan <1%
 ** (Berbeda sangat nyata) : Apabila Taraf >5% dan >1%

A1B2^a A1B3^b A2B2^b A2B3^c A1B1^d A2B1^e

Lampiran 4. Uji Statistik Abnormalitas Semen Beku Sapi Simental

Faktor A	Kelompok	Faktor B			Total	SD
		5C/M	10C/M	15C/M		
Sitrat-Kuning Telur	1.00	14.50	14.50	15.00	44.00	0.42
	2.00	15.00	13.50	14.00	42.50	
	3.00	14.00	13.00	13.50	40.50	
	JUMLAH	43.50	41.00	42.50	127.00	
	RATAAN	14.50	13.67	14.17	42.33	
Susu Segar	1.00	15.50	15.50	16.00	47.00	0.33
	2.00	16.00	15.00	15.50	46.50	
	3.00	15.50	14.50	14.50	44.50	
	JUMLAH	47.00	45.00	46.00	138.00	
	RATAAN	15.67	15.00	15.33	46.00	
	JUMLAH	90.50	86.00	88.50	265.00	
	RATAAN	15.08	14.33	14.75		
	SD	0.82	0.94	0.82		

$$FK = \frac{265,00^2}{18} = 3901,39$$

$$JKT = (14,50^2 + \dots + 14,50^2) - FK = 13.11$$

$$JKP = \frac{(43,50^2 + \dots + 46,00^2)}{3} - FK = 8.44$$

$$JKA = \frac{(127,00^2 + 138,00^2)}{9} - FK = 6.72$$

$$JKB = \frac{(90,50^2 + 86,00^2 + 88,50^2)}{6} - FK = 1.69$$

$$JKAB = JKP - JKA - JKB = 0.03$$

$$JKK = \frac{(44,00 - 47,00)^2 + \dots + (47,00 - 44,50)^2}{6} - FK = 53.11$$

$$JKS = JKT - JKP - JKK = 1.56$$

$$KTK = JKK / dbK = \frac{3.11}{2} = 1.56$$

$$KTP = JKP / dbP = \frac{8,44}{5} = 1.69$$

$$KTG = JKS / dbG = \frac{1.56}{10} = 0.16$$

$$KTA = JKA / dbA = \frac{6,72}{1} = 6,72$$

$$KTB = JKB/dbB = \frac{1.69}{2} = 0.85$$

$$KTAB = JKAB/dbAB = \frac{0.03}{2} = 0,01$$

$$SE = \sqrt{\frac{KTG}{r}} = \sqrt{\frac{0,16}{3}} = 0,22771002$$

Tabel Sidik Ragam

SK	DB	JK	KT	FHIT	F.Tab	
					0.05	0.01
Kelompok	2	3.11	1.56	10.00**	4.1	7.56
Perlakuan	5	8.44	1.69	10.86**	3.48	5.99
A	1	6.72	6.72	43.21**	4.96	10.04
B	2	1.69	0.85	5.45*	4.1	7.56
AXB	2	0.03	0.01	0.09 ^{ns}	4.1	7.56
Sisa	10	1.56	0.16			
Total	17	13.11				

Keterangan :

- Ns (Non signifikan) : Apabila Taraf < 5%
 * (Berbeda nyata) : Apabila Taraf >5% dan <1%
 ** (Berbeda sangat nyata) : Apabila Taraf >5% dan >1%

Uji Lanjut Faktor A

P	SE	SSR 0,05	SSR 0,01	LSR 0,05	LSR 0,01
2	0.22771	3.15	4.48	0.717287	1.020141

Urutan terbesar ke yang terkecil

A2	A1
15.33	14.11

Perbandingan Selisih Rataan

Perbandingan selisih	LSR 0,05	LSR 0,01	Ket
A2-A1	1.22	1.434573	2.040282 ns

Uji lanjut Faktor B

P	SE	SSR 0,05	SSR 0,01	LSR 0,05	LSR 0,01
2	0.22771	3.15	4.48	0.717287	1.020141
3	0.22771	3.3	4.73	0.751443	1.077068

Urutan yang terbesar ke yang terkecil

B1	B3	B2
15.17	14.83	14.17

Perbandingan selisih rata-rata Faktor B

Perbandingan	Selisih	LSR 0,05	LSR 0,01	Ket
B2-B3	0.34	1.434573	2.040282	ns
B2-B1	1	2.254329	3.231205	ns
B3-B1	0.66	1.502886	2.154137	ns

Lampiran 5. Uji Statistik Membran Plasma Utuh Semen Beku Sapi Simental

Faktor A	Kelompok	Faktor B			Total	SD
		5C/M	10C/M	15C/M		
Sitrat-kuning telur	1.00	42.50	54.00	49.50	146.00	
	2.00	40.00	53.50	47.50	141.00	
	3.00	39.80	52.00	46.00	137.80	
	JUMLAH	122.30	159.50	143.00	424.80	
	RATAAN	40.77	53.17	47.67	141.60	6.21
Susu Segar	1.00	38.00	49.50	46.00	133.50	
	2.00	37.50	46.00	44.50	128.00	
	3.00	36.00	43.50	43.50	123.00	
	JUMLAH	111.50	139.00	134.00	384.50	
	RATAAN	37.17	46.33	44.67	128.17	4.88
	JUMLAH	233.80	298.50	277.00	809.30	
	RATAAN	38.97	49.75	46.17		
	SD	2.55	4.83	2.12		

$$FK = \frac{809,30^2}{18} = 36387.03$$

$$JKT = (42,50 + \dots + 43,50) - FK = 501.26$$

$$JKP = \frac{(122,30^2 + \dots + 134,00^2)}{3} - FK = 464.90$$

$$JKA = \frac{(424,80^2 + 384,50^2)}{9} - FK = 90.23$$

$$JKB = \frac{(233,80^2 + 398,50^2 + 277,00^2)}{6} - FK = 361.92$$

$$JKAB = JKP - JKA - JKB = 12.75$$

$$JKK = \frac{(146,00 + 133,50)^2 + \dots + (137,80 + 123,00)^2}{6} - FK = 29.29$$

$$JKS = JKT - JKP - JKK = 7.07$$

$$KTK = JKK / dbK = \frac{29.29}{2} = 14.64$$

$$KTP = JKP / dbP = \frac{464.90}{5} = 92.98$$

$$KTG = JKS / dbG = \frac{0.71}{10} = 0.71$$

$$KTA = JKA / dbA = \frac{90.23}{1} = 90.23$$

$$KTB = JKB/dbB = \frac{361.92}{2} = 180.96$$

$$KTAB = JKAB/dbAB = \frac{12.75}{2} = 6.38$$

$$SE = \sqrt{\frac{KTG}{r}} = \sqrt{\frac{0.71}{3}} = 0.4855314$$

Tabel Sidik Ragam

SK	DB	JK	KT	FHIT	F.Tab	
					0.05	0.01
Kelompok	2	29.29	14.64	20.71**	4.1	7.56
Perlakuan	5	464.90	92.98	131.47**	3.48	5.99
A	1	90.23	90.23	127.58**	4.96	10.04
B	2	361.92	180.96	255.88**	4.1	7.56
AxB	2	12.75	6.38	9.02**	4.1	7.56
Sisa	10	7.07	0.71			
Total	17	501.26				

Keterangan :

- Ns (Non signifikan) : Apabila Taraf < 5%
 * (Berbeda nyata) : Apabila Taraf >5% dan <1%
 ** (Berbeda sangat nyata) : Apabila Taraf >5% dan >1%

Uji Lanjut Faktor A

P	SE	SSR 0,05	SSR 0,01	LSR 0,05	LSR 0,01
2	0.485531	3.15	4.48	1.529424	2.175181

Urutan dari terbesar ke yang terkecil

A2	A1
47.2	44.06

Perbandingan Selisih Rataan

Perbandingan	selisih	LSR 0,05	LSR 0,01	Ket
A2-A1	3.14	3.058848	4.350361	**

Uji lanjut Faktor B

P	SE	SSR 0,05	SSR 0,01	LSR 0,05	LSR 0,01
2	0.485531	3.15	4.48	1.529424	2.175181
3	0.485531	3.3	4.73	1.602254	2.296564

Urutan yang terbesar ke yang terkecil

B2	B3	B1
51.75	46.17	38.97

Perbandingan selisih rata-rata Faktor B

Perbandingan	Selisih	LSR 0,05	LSR 0,01	Ket
B2-B3	5.58	3.058848	4.350361	**
B2-B1	12.78	4.806761	6.889691	**
B3-B1	7.2	3.058848	4.350361	**

Tabel SSR dan LSR

Perlakuan	SE	SSR		LSR	
		5%	1%	5%	1%
2	0.4855314	3.15	4.48	1.529423911	2.1751807
3	0.4855314	3.30	4.73	1.602253621	2.2965635
4	0.4855314	3.37	4.88	1.636240819	2.3693932
5	0.4855314	3.43	4.96	1.665372703	2.4082357
6	0.4855314	3.46	5.06	1.679938645	2.4567889

Urutan rata-rata perlakuan dari yang terbesar ke yang terkecil

A1B2	A1B3	A2B2	A2B3	A1B1	A2B1
53,17	47,67	46,33	44,67	40,77	38,97

Perlakuan	Selisih	LSR		Keterangan
		5%	1%	
A1B2-A1B3	6.83	1.5294239	2.17518067	**
A1B2-A2B2	5.50	1.6022536	2.29656352	**
A1B2-A2B3	8.50	1.6362408	2.36939323	**
A1B2-A1B1	12.40	1.6653727	2.40823575	**
A1B2-A2B1	16.00	1.6799386	2.45678889	**
A1B3-A2B2	1.53	1.5294239	2.17518067	**
A1B3-A2B3	1.67	1.6022536	2.29656352	**
A1B3-A1B1	5.57	1.6362408	2.36939323	**
A1B3-A2B1	9.17	1.6653727	2.40823575	**
A2B2-A2B3	3.00	1.5294239	2.17518067	**
A2B2-A1B1	6.90	1.6022536	2.29656352	**
A2B2-A2B1	10.50	1.6362408	2.36939323	**
A2B3-A2B1	3.90	1.5294239	2.17518067	**
A2B3-A2B2	7.50	1.6022536	2.29656352	**
A1B1-A2B1	3.60	1.5294239	2.17518067	**

Keterangan :

* (Berbeda nyata) : Apabila Taraf >5% dan <1%

** (Berbeda sangat nyata) : Apabila Taraf >5% dan >1%

A1B2^a A1B3^b A2B2^c A2B3^d A1B1^e A2B1^f

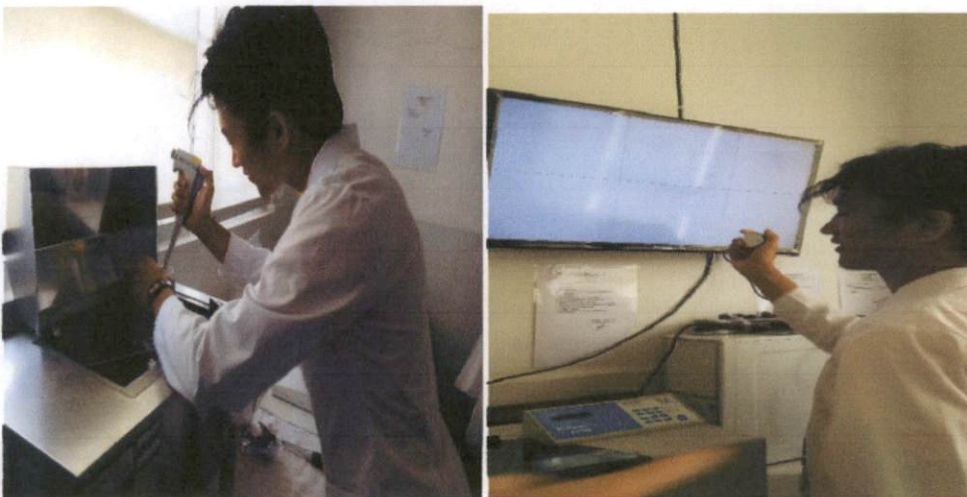
Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian



Pembuatan media pengencer susu segar dan sitrat-kuning telur



Seperangkat Vagina buatan dan Proses penampungan semen sapiSimental



Proses evaluasi semen segar



Alat pembekuan semen *Freezing Ice Cubed* Straw isi 0,25 ml

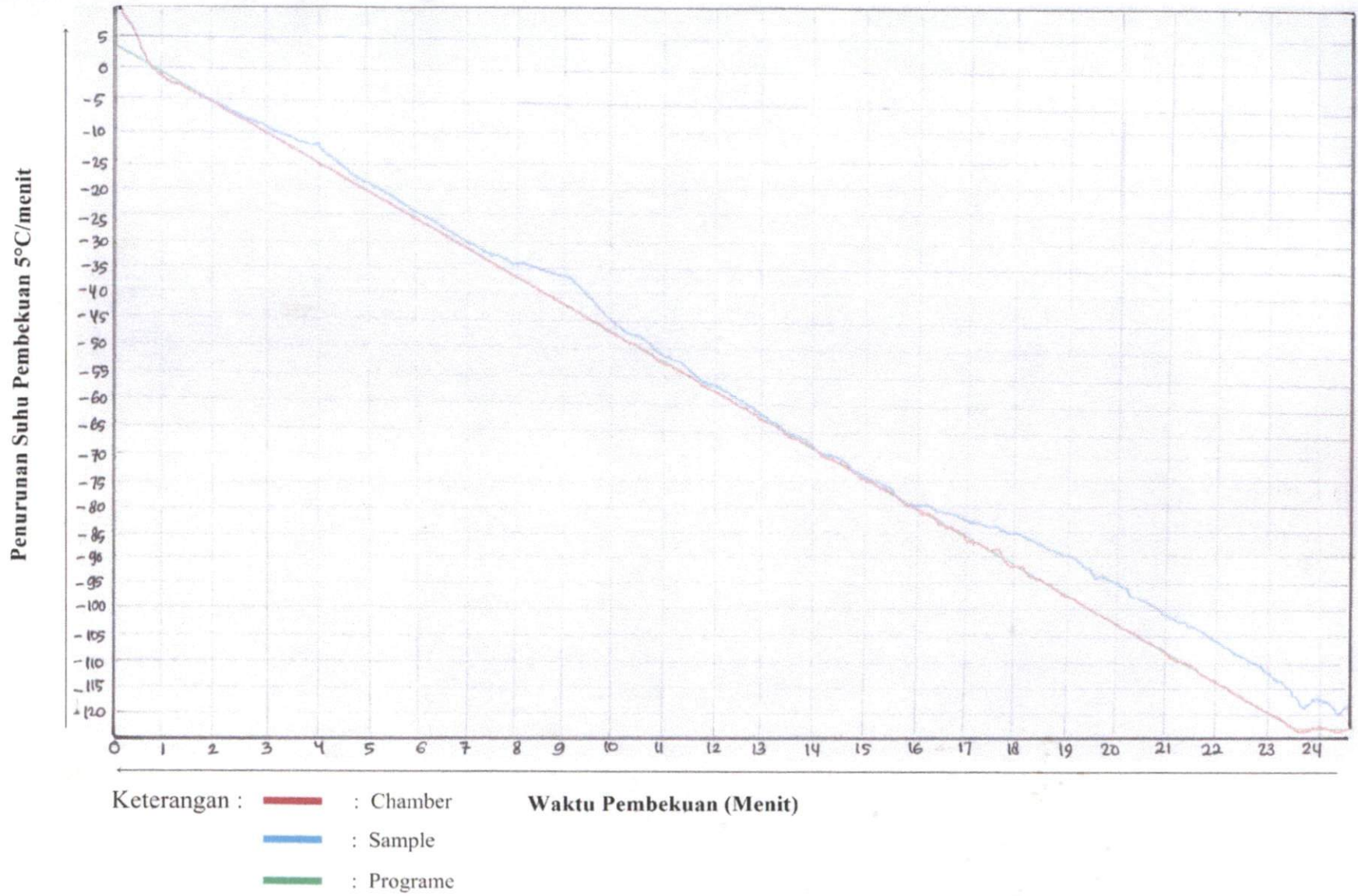


Mesin printing straw dan *Automatic Sealing Filling*

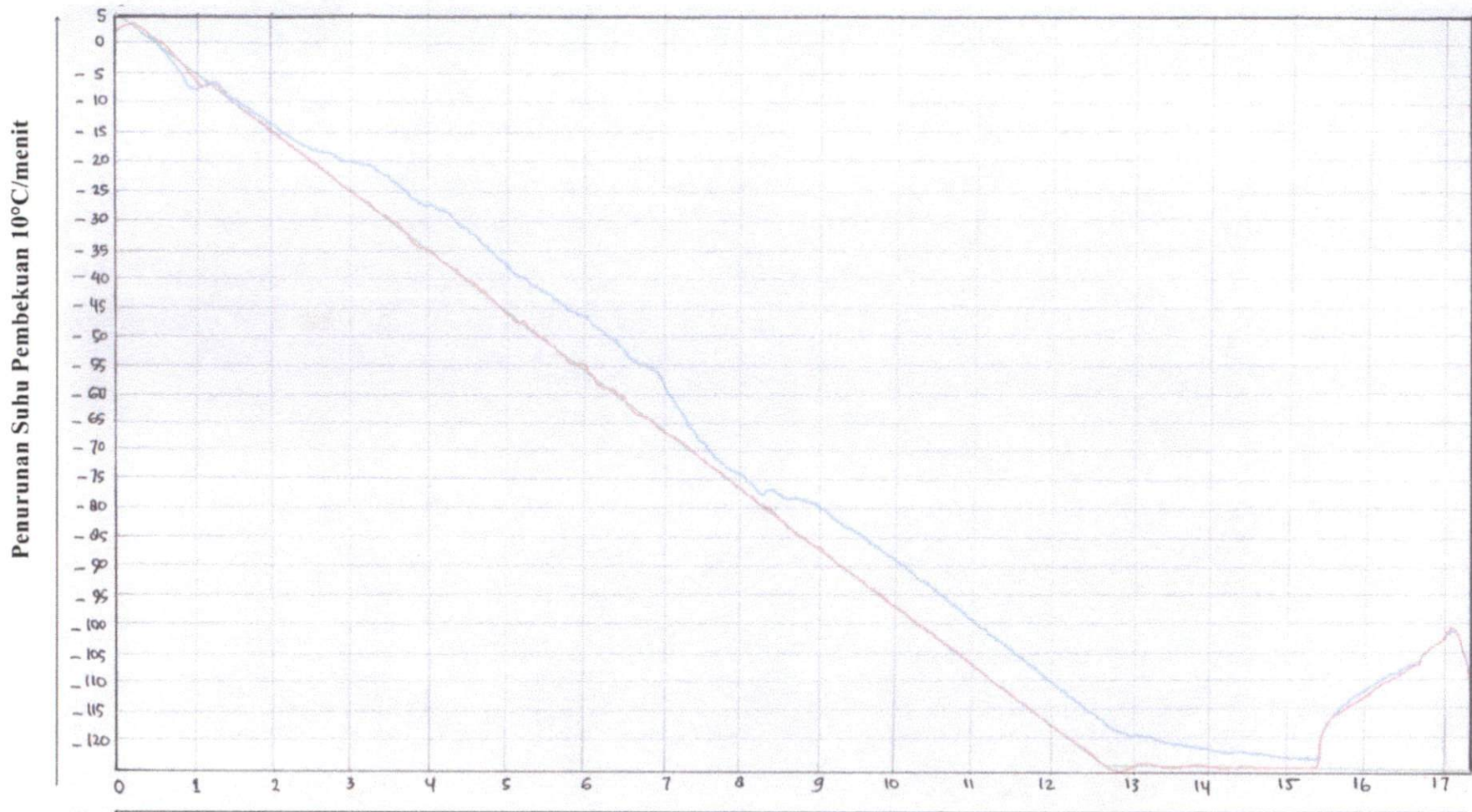


Seperang katalat *Computer Analyze Sperm Assist (CASA)* dan Hasil analisisnya

Lampiran 7. Grafik kecepatan penurunan suhu 5°C/menit



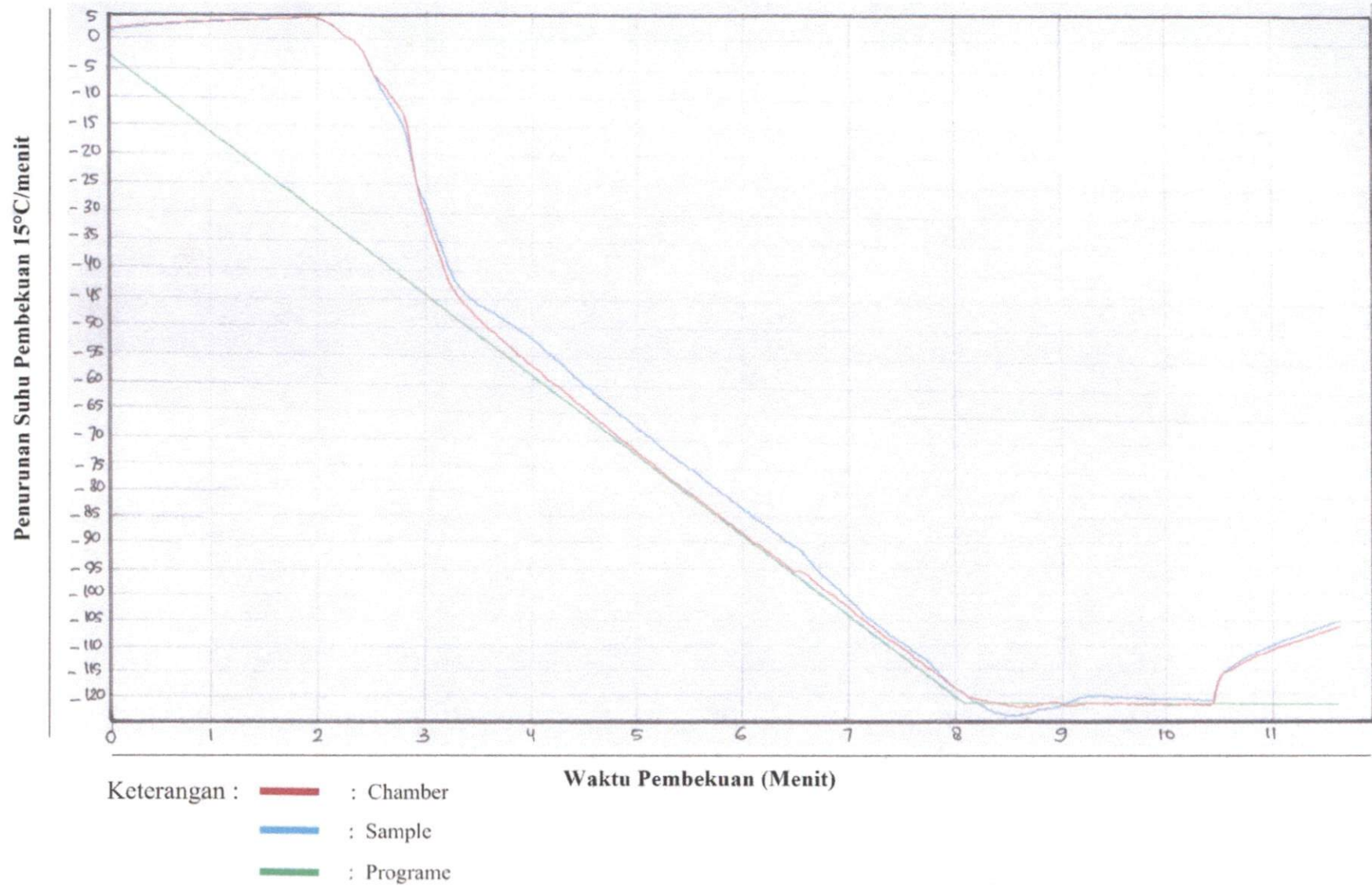
Lampiran 8. Grafik kecepatan penurunan suhu 10°C/menit



Keterangan : — : Chamber
— : Sample
— : Progame

Waktu Pembekuan (Menit)

Lampiran 9. Grafik kecepatan penurunan suhu 15°C/menit



RIWAYAT HIDUP PENULIS



Penulis lahir di Padang Panjang, pada tanggal 10 April 1992. Merupakan anak ke lima dari enam bersaudara dari Ayahanda Arifin dan Ibunda Gusniar. Penulis melanjutkan pendidikan Sekolah Dasar Negeri 26 Tambangan Kecamatan X Koto, Kabupaten Tanah Datar tahun 1999 dan lulus pada tahun 2005. Pada tahun yang sama penulis melanjutkan sekolah ke SMP Negeri 4 Kecamatan X Koto, Kabupaten Tanah Datar dan lulus ditahun 2008. Pada tahun 2008 penulis masuk SMA Muhammadiyah Padang Panjang dan lulus di tahun 2011. Setelah lulus SMA penulis melanjutkan kuliah dan diterima di Fakultas Peternakan Universitas Andalas melalui jalur PMDK.

Pada tanggal 25 Juni sampai 25 Juli 2014 penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Korong Rukam Pauh Manih Nagari Koto Dalam Kecamatan Padang Sago Kabupaten Padang Pariaman. Penulis melaksanakan Farm Experience di Unit Pelayanan Teknis (UPT) Fakultas Peternakan Universitas Andalas pada tanggal 11 November 2014 hingga 11 Desember 2014. Kemudian penulis melaksanakan penelitian di Laboratorium Bioteknologi Ternak Fakultas Peternakan dan Laboratorium Balai Inseminasi Buatan (BIB) Tuah Sakato Payakumbuh pada tanggal 15 Februari 2015 sampai 10 April 2015, dengan judul **“Pengaruh Kecepatan Penurunan Suhu dan Media Pengencer Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Simental”**

Padang, Oktober 2015

Muhammad Yasir