

**PENGARUH LAMA SENTRIFUGASI DAN KUNING TELUR
BERBEDA PADA PENGECER TRIS AMINOMETHANE
TERHADAP VIABILITAS DAN ABNORMALITAS
SPERMATOZOA KAMBING SAANEN**

SKRIPSI

HERLIN ENDCY MANGALLA
I011 20 1238



**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**



**PENGARUH LAMA SENTRIFUGASI DAN KUNING TELUR
BERBEDA PADA PENGECER TRIS AMINOMETHANE
TERHADAP VIABILITAS DAN ABNORMALITAS
SPERMATOZOA KAMBING SAANEN**

SKRIPSI

HERLIN ENDCY MANGALLA
I011 20 1238

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
Sarjana pada Fakultas Peternakan
Universitas Hasanuddin**



**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Herlin Endcy Mangalla

NIM : I011 20 1238

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang saya tulis dengan judul: **Pengaruh Lama Sentrifugasi dan Kuning Telur Berbeda pada Pengencer Tris Aminomethane terhadap Viabilitas dan Abnormalitas Spermatozoa Kambing Saanen** adalah asli.

Apabila sebagian atau seluruhnya dari karya skripsi ini tidak asli atau plagiasi maka saya bersedia dikenakan sanksi akademik sesuai peraturan yang berlaku.

Demikian pernyataan ini dibuat untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Makassar, 12 Agustus 2024

Peneliti



Herlin Endcy Mangalla




HALAMAN PENGESAHAN


Judul Skripsi : Pengaruh lama sentrifugasi dan kuning telur berbeda pada pengencer tris aminomethane terhadap viabilitas dan abnormalitas spermatozoa kambing Saanen

Nama : Herlin Endey Mangalla

NIM : I011 20 1238

Skripsi ini Telah Diperiksa dan Disetujui oleh :


Prof. Dr. Ir. Muhammad Yusuf, S.Pt., IPU. Pembimbing Utama


Dr. Muhammad Ihsan A. Dagong, S.Pt., M.Si
Pembimbing Pendamping


Dr. Agr. Rizki Nur Farmyah Utamy, S.Pt., M.Agr, IPM
Ketua Program Studi

Tanggal Lulus: 6 Agustus 2024



RINGKASAN

HERLIN ENDCY MANGALLA. I011201238. Pengaruh Lama Sentrifugasi dan Kuning Telur Berbeda pada Pengencer Tris Aminomethane terhadap Viabilitas dan Abnormalitas Spermatozoa Kambing Saanen. Dibimbing oleh: **Muhammad Yusuf** dan **Muhammad Ihsan A. Dagong.**

Peningkatan mutu dan kualitas spermatozoa kambing Saanen perlu mendapatkan perhatian khusus, begitupun dalam penggunaan pengencer semen yang tepat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama pencucian terhadap kualitas spermatozoa kambing Saanen dan untuk mengetahui jenis kuning telur terbaik sebagai pengencer tris kuning telur terhadap viabilitas dan abnormalitas spermatozoa kambing Saanen. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap faktorial dengan 2 faktor, yakni faktor S (lama sentrifugasi) dengan 3 perlakuan (S1= 15 menit, S2=20 menit, S3=25 menit) dan faktor T (jenis kuning telur) dengan 2 perlakuan (T1=kuning telur ayam ras, T2=kuning telur itik) ulangan sebanyak 5 kali (frekuensi penampungan semen). Parameter yang diamati pada penelitian ini adalah viabilitas dan abnormalitas. Pengamatan viabilitas dan abnormalitas menggunakan teknik pewarnaan dengan cara mencampurkan semen dengan larutan eosin 2% pada gelas obyek, kemudian dibuat preparat ulas dan dikeringkan. Pengamatan viabilitas dengan melihat spermatozoa yang mati akan menyerap warna sedangkan spermatozoa yang hidup tidak menyerap warna atau berwarna putih, dan pengamatan abnormalitas dengan melihat bentuk morfologi abnormal spermatozoa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa viabilitas tertinggi terdapat pada spermatozoa kambing Saanen yang disentrifugasi dengan lama waktu 20 menit menggunakan kuning telur ayam ras yaitu dengan rata-rata sebesar 56,03%. Abnormalitas spermatozoa kambing Saanen setelah disentrifugasi selama 15 menit dengan nilai rata-rata sebesar 13,93% menunjukkan perbedaan nyata terhadap spermatozoa kambing Saanen yang disentrifugasi dengan lama waktu 20 dan 25 menit yaitu sebesar 14,31% dan 14,96%. Dapat disimpulkan bahwa lama sentrifugasi dan jenis kuning telur berpengaruh nyata terhadap viabilitas semen kambing Saanen dan lama waktu sentrifugasi terbaik pada 20 menit serta jenis kuning telur terbaik yaitu kuning telur ayam ras serta lama sentrifugasi berpengaruh terhadap abnormalitas semen kambing Saanen, namun jenis kuning telur yang digunakan tidak berpengaruh pada abnormalitas.

Kata Kunci: Abnormalitas, Kambing Saanen, Kuning Telur, Sentrifugasi, Viabilitas



SUMMARY

HERLIN ENDCY MANGALLA. I011201238. Effect of Centrifugation Duration and Different Egg Yolks in Tris Aminomethane Diluent on Viability and Abnormality of Saanen Goat Spermatozoa. Supervised by: **Muhammad Yusuf** and **Muhammad Ihsan A. Dagong**.

Improving the quality of Saanen goat spermatozoa needs special attention, as well as the use of the right semen diluent. This study aims to determine the effect of washing time on the quality of Saanen goat spermatozoa and to determine the best type of egg yolk as egg yolk tris diluent on viability and abnormality of Saanen goat spermatozoa. This study used a factorial complete randomized design with 2 factors, namely factor S (length of centrifugation) with 3 treatments (S1 = 15 minutes, S2 = 20 minutes, S3 = 25 minutes) and factor T (type of egg yolk) with 2 treatments (T1 = purebred layer egg yolk, T2 = duck egg yolk) replicated 5 times (frequency of semen collection). The parameters observed in this study were viability and abnormality. Observations of viability and abnormality using staining techniques by mixing semen with 2% eosin solution in an object glass, then made a review preparation and dried. Observation of viability by looking at dead spermatozoa will absorb color while living spermatozoa do not absorb color or are white, and observation of abnormality by looking at the abnormal morphological shape of spermatozoa. The results showed that the highest viability was found in Saanen goat spermatozoa centrifuged with a duration of 20 minutes using layer egg yolk, with an average of 56.03%. Abnormality of Saanen goat spermatozoa after centrifugation for 15 minutes with an average value of 13.93% showed a significant difference to Saanen goat spermatozoa centrifuged with a length of time of 20 and 25 minutes, namely 14.31% and 14.96%. It can be concluded that the length of centrifugation and the type of egg yolk have a significant effect on the viability of Saanen goat semen and the best centrifugation time at 20 minutes and the best type of egg yolk is layer egg yolk and the length of centrifugation affects the abnormality of Saanen goat semen, but the type of egg yolk used has no effect on abnormality.

Keywords: Abnormality, Egg Yolk, Saanen Goat, Centrifugation, Viability.



KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur hanya bagi Tuhan Yesus Kristus, yang telah melimpahkan hikmat dan berkat-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan penyusunan skripsi ini yang berjudul “**Pengaruh Lama Sentrifugasi dan Kuning Telur Berbeda pada Pengencer Tris Aminomethane terhadap Viabilitas dan Abnormalitas Spermatozoa Kambing Saanen**”. Penyusunan skripsi ini melibatkan banyak pihak yang turut membantu membimbing dan mendukung penulis, oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih utamanya kepada:

1. **Yunus D. Paramma** dan **Maria B. Pasuang** sebagai orang tua penulis, gelar sarjana ini penulis persembahkan untuk kedua orang tua penulis yang selalu mendoakan serta mendukung anaknya dalam setiap proses kehidupan yang telah dan akan dilalui penulis.
2. Bapak **Prof. Ir. Muhammad Yusuf, S.Pt., Ph.D., IPU**, selaku pembimbing utama dan **Dr. Muhammad Ihsan A. Dagong, S.Pt., M. Si**, selaku pembimbing anggota pada makalah usulan penelitian yang telah membimbing dan mengarahkan penulis dalam penyusunan skripsi ini.
3. Bapak **Ir. Sahiruddin, S.Pt., M.Si., ASEAN Eng** dan Ibu **Masturi M, S.Pt., M.Si**, selaku dosen pembahas yang telah meluangkan banyak waktu dan perhatiannya untuk memberikan masukan dalam skripsi ini.
4. Terima kasih kepada saudara penulis **Yohanis Roni Paramma, Petrus Robi Paramma, Paul Roy Paramma, Ruth Erni Mangalla, Yohana Elni Mangalla, Evivania Mangalla, Yehezkiel Roky Paramma** yang turut memberikan bantuan baik berupa moral dan moril serta motivasi yang telah diberikan dalam menyelesaikan skripsi ini.



5. Kakanda **Rajamuddin S. Pt** terima kasih atas segala bantuannya dalam mengarahkan dan membimbing penulis dalam pembuatan skripsi ini.
6. **Tim TKT Wulan** dan **Kiki** terima kasih telah atas kerjasamanya selama penelitian.
7. Kepada teman seperjuangan **Annisa Zahransy, Sri Wulan Krisdayanti Hutaaruk,** dan **Putri Sakinah** terima kasih telah menjadi tempat berkeluh kesah penulis selama mengerjakan skripsi ini.
8. Teman-teman **APM21 HIMAPROTEK-UH** dan **CROWN20**, serta semua pihak yang turut membantu dalam penyelesaian makalah ini, terimakasih atas segala bantuannya dalam penyelesaian skripsi ini.
9. Dan terakhir untuk diri sendiri, Herlin Endcy Mangalla. Terima kasih masih bertahan dan berprogres sampai saat ini. Terima kasih tetap menjadi pribadi yang selalu berusaha walaupun terlalu banyak hal diluar ekspektasi yang terjadi dalam hidup. Berbahagialah selalu apapun dan dimanapun itu, Herlin.

Penulis menyadari bahwa gagasan ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, kritik dan saran sangat penulis harapkan guna kebaikan bersama. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca pihak demi kemajuan ilmu peternakan.

Makassar, 12 Agustus 2024

Herlin Endcy Mangalla



DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
RINGKASAN	v
SUMMARY	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
BAB I.....	1
PENDAHULUAN	1
BAB II.....	4
TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Kambing Saanen.....	4
2.2. Kualitas Semen Kambing.....	5
2.3. Pencucian Semen.....	9
2.4. Simpan Beku	10
2.5. Tris Kuning Telur.....	11
2.6. Abnormalitas Spermatozoa	14
2.7. Viabilitas Spermatozoa.....	16
BAB III	18
METODE PENELITIAN.....	18
3.1. Waktu dan tempat penelitian.....	18
3.2. Materi penelitian.....	18
3.3. Tahapan dan prosedur penelitian.....	18
3.3.1. Rancangan Penelitian	18
3.3.2. Prosedur penelitian	19
3.3.2.1 Koleksi Semen	19
3.3.2.2 Evaluasi Semen Secara Makroskopis.....	20
3.2.3 Evaluasi Semen Secara Mikroskopis.....	20
3.2.4 Pembuatan Bahan Pengencer Semen.....	22



3.3.2.5 Pencucian semen	22
3.3.2.6 Pengenceran semen.....	23
3.3.2.7 Pembekuan Semen.....	23
3.3.3. Parameter yang diukur.....	24
3.4. Analisis data	26
BAB IV	27
HASIL DAN PEMBAHASAN.....	27
4.1 Uji Makroskopis dan Mikroskopis Kualitas Semen Segar Kambing Saanen	27
4.2 Viabilitas Spermatozoa Kambing Saanen setelah Sentrifugasi dengan Lama Waktu Berbeda Menggunakan Pengencer TKT Ayam Ras dan TKT Itik ..	31
4.3 Abnormalitas Spermatozoa Kambing Saanen setelah Sentrifugasi dengan Lama Waktu Berbeda Menggunakan Pengencer TKT Ayam Ras dan TKT Itik.....	34
BAB V.....	37
PENUTUP.....	37
5.1 Kesimpulan.....	37
5.2 Saran.....	37
DAFTAR PUSTAKA	38
LAMPIRAN.....	47
BIODATA PENELITI	58



DAFTAR GAMBAR

No.		Halaman
1.	Kambing Saanen	6
2.	Morfologi Spermatozoa Normal	17
3.	Macam-Macam Abnormalitas Primer Spermatozoa	18
4.	Diagram Alir Penelitian	28
5.	Pengamatan Viabilitas Spermatozoa Kambing Saanen.	32
6.	Pengamatan Abnormalitas Spermatozoa Kambing Saanen.	35



DAFTAR TABEL

No.	Halaman
1. Uji Makroskopis dan Mikroskopis Kualitas Semen Segar Kambing Saanen	29
2. Viabilitas Spermatozoa Kambing Saanen setelah Sentrifugasi dengan Lama Waktu yang Berbeda Menggunakan Pengencer TKT Ayam Ras dan TKT Itik.....	33
3. Abnormalitas Spermatozoa Kambing Saanen setelah Sentrifugasi dengan Lama Waktu yang Berbeda Menggunakan Pengencer TKT Ayam Ras dan TKT Itik.....	35



BAB I

PENDAHULUAN

Salah satu upaya untuk meningkatkan produksi susu kambing lokal dapat ditempuh melalui pendekatan aspek pemuliaan, yaitu melalui persilangan dengan kambing bergenetik unggul dalam produksi susu, seperti kambing Saanen. Upaya pemuliaan kambing Saanen dapat dilakukan dengan cara proses penampungan semen dari kambing Saanen jantan yang selanjutnya akan dilaksanakan inseminasi buatan (IB) pada kambing betina. Semen kambing Saanen memiliki permasalahan pada penanganan semen kambing yaitu adanya enzim yang terkandung di dalam plasma semen. Enzim tersebut disintesis oleh kelenjar bulbourethralis (kelenjar Cowper) yang apabila berinteraksi dengan kuning telur atau susu akan menyebabkan penggumpalan (koagulasi) semen (Leboeuf *et al.*, 2000). Salah satu solusi yang dapat dilakukan untuk mengatasi permasalahan tersebut adalah melalui pencucian semen.

Penghilangan plasma semen dengan pencucian setelah penampungan meningkatkan persentase hidup dan motilitas spermatozoa (Ervandi dkk., 2023). Untuk meningkatkan kualitas sperma kambing maka harus dilakukan penghilangan plasma sperma dengan pencucian sperma segera setelah penampungan. Pencucian sperma dengan metode sentrifugasi dilakukan untuk memisahkan spermatozoa dengan plasma sperma, sehingga dapat meningkatkan kualitas sperma terlebih lagi jika ditambahkan dengan pengencer kuning telur (Bintara, 2010).

Kuning telur dapat dijadikan sebagai cara lain pengganti andromed, selain yang murah dan praktis didapatkan, kuning telur mempunyai kandungan yang dibutuhkan spermatozoa (Nur dkk., 2023). Kuning telur memiliki



bagian 30% dari berat telur komposisi kuning telur terdiri dari air, protein, lemak, karbohidrat, mineral dan vitamin yang bermanfaat untuk menjaga kualitas semen (Armangun dkk., 2022).

Selain telur ayam, telur itik juga dapat dimanfaatkan sebagai pengencer (Indriani dkk., 2013). Kuning telur itik yang ternyata memiliki komposisi kimia yang lebih lengkap dibandingkan kuning telur ayam yaitu mengandung protein, lemak, dan kolesterol yang lebih tinggi dibanding kuning telur ayam ras (Kulaksiz *et al.*, 2010). Komponen tersebut menguntungkan bagi spermatozoa selama proses kriopreservasi karena secara spesifik berfungsi sebagai komponen protektif (Gholami *et al.*, 2012).

Upaya peningkatan kualitas semen, perlu diikuti dengan penilaian kualitas semen secara akurat. Penilaian kualitas semen meliputi keadaan umum seperti volume, warna, bau, konsistensi, pH, motilitas atau daya hidupnya. Penilaian kualitas semen sebelum dilakukan pencucian sangat penting karena akan digunakan untuk menemukan kadar pengencer semen. Motilitas dan viabilitas sperma merupakan parameter yang penting untuk keberhasilan proses fertilisasi (Bintara, 2010).

Motilitas sperma menggambarkan kemampuan spermatozoa untuk membuahi sel telur, semakin tinggi nilai motilitas maka semakin tinggi pula persentase hidup (viabilitas) spermatozoa tersebut. Penurunan motilitas dan viabilitas yang disebabkan oleh berkurangnya metabolisme sel spermatozoa ini terjadi akibat efek *cold shock*. Kejutan dingin (*cold shock*) dapat menyebabkan

penurunan motilitas dan memicu terjadinya kerusakan langsung yang berpengaruh



pada struktur dan fungsi seluler, salah satunya yaitu penurunan proses metabolisme spermatozoa (Sudarno dkk., 2014).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh penggunaan pengencer tris kuning telur pada semen kambing Saanen yang dicuci. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian tentang kambing Saanen yang didasari pada pengaruh pencucian menggunakan tris kuning telur berbeda terhadap viabilitas dan abnormalitas spermatozoa, sehingga akan diperoleh pengetahuan baru. Pengetahuan tersebut juga dapat memberikan informasi tentang kambing Saanen dalam upaya meningkatkan mutu genetik ternak lokal sehingga dapat berkontribusi dalam meningkatkan populasi ternak perah di Indonesia.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh lama pencucian terhadap kualitas spermatozoa kambing Saanen dan untuk mengetahui jenis kuning telur terbaik sebagai pengencer tris kuning telur terhadap viabilitas dan abnormalitas spermatozoa kambing Saanen.

Adapun kegunaan dari penelitian ini diharapkan mampu menjadi sumber informasi terkait penambahan jenis kuning telur berbeda pada pengencer spermatozoa kambing Saanen setelah pencucian melalui sentrifugasi.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kambing Saanen

Usaha peternakan kambing perah sudah sejak lama dipelihara oleh masyarakat di Indonesia. Kambing perah memiliki potensi dalam menghasilkan produksi susu yang cukup tinggi. Jenis ternak kambing yang menghasilkan produksi susu tinggi adalah kambing Saanen, namun belum banyak dibudidayakan oleh masyarakat Indonesia (Christi dkk., 2021).



Gambar 1. Kambing Saanen (Selmylivestock, 2019)

Kambing Saanen adalah ternak penghasil susu cukup tinggi 3 liter/ekor/hari yang berasal dari wilayah subtropic dengan ciri bulu pendek berwarna putih, hidungnya lurus dan muka berupa segi tiga, berekor tipis dan pendek, jantan dan betina bertanduk (Rusdiana dkk., 2015). Kambing Saanen berasal dari lembah Saanen di negara Swiss bagian barat. Jenis kambing ini banyak dipelihara sebagai ternak daging dan susu. Budidaya kambing Saanen penghasil susu unggulan patut dipertimbangkan, mengingat permintaan dan harga susu kambing yang sangat

kan. Kambing Saanen bisa dijadikan bibit unggul dalam upaya
atkan mutu genetik ternak lokal dalam menghasilkan produksi susu. Untuk
tikan ternak bergenetik unggul serta pemenuhan susu dalam negeri



diperlukan teknologi tepat guna seperti persilangan antara kambing Saanen dengan kambing lokal melalui Inseminasi Buatan (IB) (Lutfhi dkk., 2024).

2.2. Kualitas Semen Kambing

Semen adalah sekresi kelamin pejantan yang secara normal diejakulasikan ke dalam saluran kelamin betina sewaktu kopulasi, tetapi dapat pula ditampung dengan berbagai cara untuk keperluan IB (Toelihere, 1993). Baku dkk., (2022) menyatakan bahwa semen adalah cairan atau suspensi semigelatinous dari organ reproduksi jantan yang berisi sel-sel gamet jantan atau spermatozoa dan sekresi dari organ aksesoris saluran reproduksi jantan. Semen kambing berwarna abu-abu hingga kekuningan. Volume ejakulasi rata-rata satu mililiter (ml) dengan *range* antara 0,5 - 1,2 ml. Semen kambing terdiri dari dua bagian utama yaitu plasma dan spermatozoa (Anisah dkk., 2024).

Semen yang telah ditampung akan dievaluasi dalam kondisi segar yang dimaksudkan untuk mengetahui kualitasnya. Kualitas semen dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu bangsa, umur, pakan, suhu, musim, dan frekuensi ejakulasi. Perbedaan umur ternak dapat memengaruhi kualitas semen yang dihasilkan. Umur ternak yang masih muda dan terlalu tua akan menghasilkan semen dengan kualitas kurang bagus karena organ reproduksinya belum optimal dan menurunnya fungsi organ reproduksi (Prasetyo dkk., 2020).

Evaluasi semen adalah salah satu parameter untuk memprediksi kemampuan seekor pejantan dalam melakukan fertilisasi. Metode yang digunakan untuk evaluasi semen sangat banyak, namun hanya beberapa saja yang digunakan

untuk menentukan kualitas semen secara praktis (Moradpour, 2019). Parameter yang digunakan untuk menentukan kualitas semen adalah parameter makroskopik



dan mikroskopik. Parameter makroskopik merupakan parameter yang terdiri dari pengamatan volume, warna, konsistensi, dan derajat keasaman atau pH. Sedangkan parameter mikroskopik merupakan parameter yang diamati dengan bantuan mikroskop seperti konsentrasi, motilitas, abnormalitas, viabilitas, dan kinematika spermatozoa (Rahayu, 2014; Cenariu *et al.*, 2018; Moradpour, 2019).

Volume semen dapat diketahui dengan menggunakan gelas penampungan yang berskala atau untuk lebih akurat dengan menggunakan pipet ukur, penampungan semen pada kambing dengan menggunakan vagina buatan akan didapatkan volume sekitar 1 ml tergantung pada umur, kondisi hewan, frekuensi penampungan dan keahlian dari operator (Evans dan Maxwell, 1987). Menurut Aji dkk (2023), volume semen kambing per ejakulat berkisar 0,5 - 2 ml. Sedangkan menurut Kaka dkk., (2014) menyatakan bahwa volume semen kambing berkisar 0,5 - 1,2 ml dengan rata-rata 1 ml per ejakulat. Volume semen kambing per ejakulat dipengaruhi oleh adanya perbedaan bangsa, umur, ukuran badan, nutrisi, frekuensi penampungan dan berbagai faktor lain.

Warna semen pada kambing yaitu putih dan krem jika konsentrasi spermatozoa tinggi. Kadang-kadang sering berwarna kuning, karena mengandung riboflavin yang disekresikan oleh kelenjar vesikula (Evans dan Maxwell, 1987). Warna merah biasanya akibat semen tercampur dengan darah akibat adanya perlakuan pada saluran reproduksi jantan (Tuhu, 2013).

Konsistensi atau kekentalan semen segar dilihat dengan cara memiringkan tabung semen secara perlahan dan mengembalikan semen keposisi semula sehingga

tentukan apakah cairan semen tersebut encer, sedang atau kental. Semen kambing dan domba mempunyai konsistensi kental berwarna krem. Semen cair



berwarna atau hanya sedikit kekeruhan memiliki konsentrasi sekitar 100 juta sel spermatozoa per ml dan yang jernih seperti air kurang dari 50 juta per ml (Feradis, 2010). Konsistensi semen tergantung pada rasio kandungan spermatozoa dan seminal plasma. Konsistensi adalah derajat kekentalan yang erat kaitanya dengan konsentrasi spermatozoa.

Derajat keasaman semen diukur dengan pH meter atau kertas lakmus. Nilai pH semen yang normal adalah sekitar 7,0 (Roznisar dkk., 2021). Derajat keasaman semen dipengaruhi oleh konsentrasi spermatozoa yang terkandung didalamnya. Semakin tinggi konsentrasi spermatozoa, semakin rendah pH semen. Hal ini disebabkan oleh spermatozoa dalam jumlah banyak akan menghasilkan asam laktat dalam jumlah banyak pula sehingga semen semakin asam atau pH semakin rendah (Hijriyanto, 2017).

Konsentrasi spermatozoa atau kandungan spermatozoa dalam setiap mililiter semen merupakan salah satu parameter kualitas semen yang sangat berguna untuk menentukan jumlah betina yang dapat diinseminasi menggunakan semen tersebut (Kartasudjana, 2020). Semen kambing yang mempunyai kualitas baik memiliki konsentrasi sekitar 2500-5000 juta/ml (Evans dan Maxwell, 1987). Penilaian konsentrasi spermatozoa permililiter sangat penting, karena faktor ini digunakan untuk penentuan kualitas semen dan menentukan jumlah pengencer (Chumairoh dkk., 2023).

Motilitas atau daya gerak spermatozoa merupakan ukuran yang digunakan untuk melihat kesanggupan spermatozoa dalam membuahi sel telur (Munazaroh

13). Menurut Tolihere (1993), bahwa semen segar harus mempunyai motil minimal 65%. Hal tersebut sama dengan Savitri dan Suharyati



(2014) yang menyatakan bahwa motilitas yang baik yaitu antara 60% - 80%. Motilitas dipengaruhi oleh umur sperma, maturasi sperma, penyimpanan energi *Adenosin Tri-fosfat* (ATP), agen aktif, bifisik dan fisiologik, cairan suspensi dan adanya rangsangan atau hambatan (Laos dkk., 2018). Motilitas spermatozoa sangat bergantung pada suplai energi hasil metabolisme. Metabolisme berlangsung dengan baik jika membran plasma berada dalam keadaan utuh sehingga mampu mengatur substrat atau elektrolit yang diperlukan untuk metabolisme. Selain itu, pakan juga merupakan salah satu faktor penting yang mempengaruhi motilitas spermatozoa (Zalyazaini dkk., 2016). Gerakan spermatozoa pada umumnya dan yang terbaik adalah pergerakan progresif atau gerakan aktif maju ke depan. Gerakan melingkar dan gerakan mundur sering merupakan tanda-tanda *cold shock* atau media yang tidak isotonik dengan semen. Gerakan berayun atau berputar di tempat sering terlihat pada semen yang tua, apabila kebanyakan spermatozoa telah berhenti bergerak maka dianggap mati (Woli, 2017).

Viabilitas atau spermatozoa hidup adalah syarat mutlak bagi terjadinya fertilisasi (Munazaroh dkk., 2013). Pemeriksaan hidup dan mati spermatozoa harus dilakukan secara selektif. Perhitungan spermatozoa yang hidup dan yang mati menggunakan pewarnaan eosin. Sperma yang tercat atau berwarna merah berarti spermatozoa tersebut mati, sedangkan yang tidak terwarnai berarti spermatozoa tersebut hidup (Murdiyanti dkk., 2024).

Abnormalitas spermatozoa berkorelasi positif dengan fertilitas pejantan, ketika pejantan mengejakulasikan semennya dan terdapat spermatozoa abnormal,

lebih dari 20% atau lebih maka fertilitas pejantan tersebut dipertanyakan (Murdiyanti, 2011). Hal ini didukung oleh pendaoat Garner dan Hafez (2000), yang



menyatakan bahwa semen kambing pada umumnya memiliki persentase spermatozoa abnormal antara 5% - 20%. Menurut Tolihere (1993), abnormalitas ditandai dengan adanya spermatozoa yang memiliki kepala sangat kecil atau sangat besar, berkepala ganda, berbentuk seperti per, badan atau ekor ganda, dan kepala terputus dengan badan.

2.3. Pencucian Semen

Pencucian semen dilakukan untuk mempertahankan kualitas spermatozoa. Hal ini perlu dilakukan segera setelah pencucian agar spermatozoa tidak cepat mati. Menurut Lebouef *et al.*, (2000) menyatakan bahwa pencucian semen segera setelah penampungan dengan menghilangkan seminal plasma dapat meningkatkan persentase motilitas spermatozoa selama penyimpanan dalam pengencer kuning telur. Jika dilakukan dengan baik, pencucian semen akan meningkatkan kualitas spermatozoa. Namun apabila dilakukan dengan cara yang tidak benar maka justru akan merusak spermatozoa.

Pencucian semen dapat dilakukan dengan beberapa cara diantaranya melalui sentrifugasi dan *swim up* (Handayani *et al.*, 2015). Pencucian semen dengan metode sentrifugasi dilakukan untuk memisahkan spermatozoa dengan plasma semen yang mengandung sebuah enzim yaitu enzim fosfolipase-A yang disintesis oleh kelenjar Cowper, apabila berinteraksi dengan kuning telur akan menyebabkan penggumpalan (koagulasi) semen. Metode sentrifugasi dilakukan dengan cara memutar semen di dalam tabung yang berisi medium isotonis dengan waktu dan kecepatan tertentu (Hafez, 2000).

medium pencuci yang diperlukan untuk pencucian spermatozoa harus mengandung zat makanan sebagai pengganti hilangnya plasma semen, mampu



mempertahankan pH dan tidak bersifat racun terhadap spermatozoa (Susilawati, 2018). Salah satu bahan pencuci yang dapat digunakan adalah tris kuning telur. Tris kuning telur yang berfungsi sebagai sumber energi, melindungi dari kejutan dingin serta melindungi spermatozoa dalam proses pengenceran semen (Nilawati, 2011). Fungsi Tris kuning telur sebagai penyangga atau buffer, menstabilkan pH, mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit, melindungi spermatozoa dari kejutan dingin (*Cold shock*) yang merupakan larutan yang mengandung fruktosa dan asam sitrat (Novita dkk., 2019).

2.4. Simpan Beku

Semen beku adalah semen yang telah diberi penambahan pengencer untuk memberikan nutrisi pada semen, dengan tujuan meningkatkan kualitas semen yang disimpan dengan keadaan beku dalam container yang berisi nitrogen cair dengan suhu -196°C . Semen beku yang berkualitas baik ditunjukkan dengan persentase motilitas dan persentase hidup *post thawing* yang tinggi (Aini dkk., 2014). Semen beku memiliki keunggulan yaitu dapat disimpan dalam jangka waktu lama, namun memiliki kelemahan penurunan kualitas semen selama proses pembekuan karena melewati berbagai suhu ekstrim yang dapat menurunkan kualitasnya (Komariah dkk., 2013). Berdasarkan SNI 4869.3:2014 mengenai standar kualitas semen beku kambing dan domba yaitu semen beku tidak mengandung mikroorganisme penyebab penyakit hewan menular. Semen beku sesudah dicairkan kembali (*postthawing*) pada suhu antara 37°C – 38°C selama 15 detik sampai dengan 30 detik harus menunjukkan motilitas spermatozoa minimal 40 %, serta gerakan

spermatozoa minimal skor 2 (Rizal dkk., 2021). Produksi semen beku beberapa tahapan, salah satunya adalah tahap pengenceran yang bertujuan



melindungi semen saat pembekuan pada suhu rendah. Masalah yang sering terjadi pada proses ini adalah cekaman dingin (*cold shock*) dan kerusakan sel akibat terbentuknya kristal es pada fase beku, sehingga dibutuhkan pengencer yang mempunyai sifat krioprotektan baik ekstraseluler maupun intraseluler (Sudarmanto dkk., 2015).

Pemberian agen protektan tersebut diharapkan dapat melindungi membran plasma dan isi sel secara keseluruhan dari kerusakan fisik dan fungsional pada saat dan selama proses pembekuan semen. Hal yang perlu diperhatikan pada proses pengenceran semen adalah waktu gliserolisasi yaitu waktu yang diperlukan gliserol untuk menyesuaikan diri dengan pengencer karena titik kritis keberhasilan pembekuan semen ditentukan pada proses ini. Disamping fungsinya sebagai krioprotektan, gliserol juga bersifat toxic, sehingga beberapa peneliti menganjurkan untuk melakukan pemberian gliserol sesaat sebelum pembekuan (Yusuf dkk., 2006) sehingga perlu adanya pengetahuan mengenai waktu optimal dalam proses gliserolisasi.

2.5. Tris Kuning Telur

Bahan pengencer tris kuning telur terdiri dari Tris *aminomethane*, asam sitrat *monohidrat*, kristal *glucosa*, kuning telur, *penicilin*, *streptomycin* dan *aquabidestilata*. Tris *aminomethane* berfungsi sebagai buffer dan mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit. Pengencer kuning telur yang mengandung lipoprotein dan fosfolipid seperti fosfatidikolin yang mempertahankan serta mencegah kerusakan membran sperma pada proses

dan melindungi spermatozoa terhadap *cold shock* dan sebagai sumber energi spermatozoa (Allai *et al.*, 2015).



Kuning telur terdiri atas 4% air, protein 16,5%, lemak 32% dan hidrat arang 1%. Lemak kuning telur terdiri atas gliserida 62%, fosfolipid 33% dan kolesterol 5%. Fosfolipid terdiri atas lechitine 73% dan cephalin 15% (Susilawati dkk., 2013). Minimal pemakaian kuning telur sebanyak 5% dari zat pengencer bila langsung digunakan, sedangkan bila akan disimpan pemakaian kuning telur maksimum 20% dari zat pengencer (Sari dkk., 2019).

Lipoprotein dan lechitin yang terkandung di dalam telur mempertahankan dan melindungi integritas selubung lipoprotein dari sel spermatozoa. Kuning telur juga mengandung glukosa, berbagai protein, vitamin yang memiliki viskositas yang menguntungkan bagi spermatozoa. Kuning telur mengandung asam-asam amino *L-tytosin*, *L-tryptohan* dan *L-phenilalanin* yang menghasilkan hidrogen peroksida dan deaminasi oksidatif (Hoesni, 2016). Kandungan lesitin dalam kuning telur ayam 32,6% dan telur itik sebanyak 35,2% dimana lesitin berfungsi untuk melindungi dan mempertahankan semen dari kejut dingin (*cold shock*) (Nugroho dkk., 2014).

Penggunaan telur ayam ras sebagai pengencer sangat berharga dan sudah meluas ke seluruh dunia (Wulansari dan Ducha, 2019). Sekitar 30% dari berat telur adalah bagian dari kuning telur. Kuning telur memiliki komposisi gizi yang lebih lengkap dibanding putih telur. Komposisi kuning telur ayam ras terdiri dari air, protein, lemak, karbohidrat, mineral dan vitamin dan asam amino esensial dalam jumlah yang cukup seimbang. Kuning telur termasuk bahan krioprotektan ekstraseluler yaitu krioprotektan dengan molekul-molekul besar, yang tidak dapat menembus membran sel (Sugiarto dkk., 2014) dan mengandung lechitine dan

in yang merupakan protein terberat molekul tinggi dan menyelubungi spermatozoa sehingga dapat mengurangi *cold shock* pada waktu pembekuan



(Dwitarizki dkk., 2015). Berdasarkan kandungan nutrisi yang dimiliki, kuning telur itik mengandung lebih banyak *monounsaturated fatty acids* (MUPA) dan *phosphatidylinositol* (PI) yang lebih banyak dibandingkan kuning telur ayam.

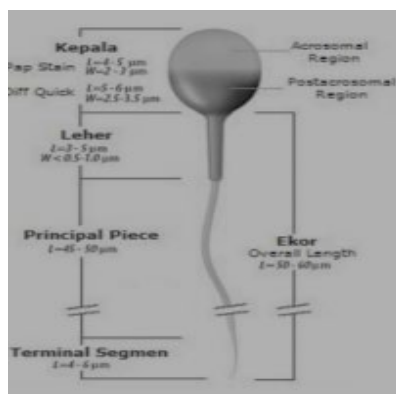
Selain itu, kandungan lemak dan kadar kolesterol pada kuning telur itik lebih tinggi jika dibandingkan dengan kuning telur ayam (Bebas dkk., 2016). Kandungan kolesterol pada kuning telur berperan penting sebagai agen paling efektif melindungi spermatozoa dari *cold shock* akibat perubahan suhu dari suhu tubuh ke suhu ruang kemudian penyimpanan pada suhu dingin (Wulansari dan Duchu dkk., 2019). Menurut Irmawati dkk., (2016) kuning telur itik mengandung glukosa yang dimanfaatkan sebagai sumber energi spermatozoa. Energi tersebut dapat digunakan oleh spermatozoa untuk bergerak aktif. Indriani dkk., (2013) menambahkan bahwa telur itik mempunyai energi yang cukup dan mampu menyediakan lingkungan yang baik bagi spermatozoa dan melindungi membran sehingga permeabilitas membran tetap baik dan spermatozoa yang hidup tinggi.

Kandungan kolesterol pada kuning telur itik berperan sebagai agen paling efektif melindungi spermatozoa dari *cold shock*. Spermatozoa yang memiliki kandungan kolesterol yang lebih tinggi dan derajat asam lemak tak jenuh lebih rendah cenderung lebih resisten terhadap pengaruh cekaman dingin karena memiliki struktur membran plasma yang lebih kompak. Hal ini dikarenakan kolesterol memiliki peran dalam mempertahankan fluiditas membran (Rizal dan Herdis, 2010).



2.6. Abnormalitas Spermatozoa

Secara morfologis, spermatozoa normal terdiri dari bagian kepala dan ekor. Bagian ekor dibagi lagi menjadi bagian leher atau tengah, bagian utama dan bagian ujung (Austin dan Short, 1982). Kepala spermatozoa berbentuk oval memanjang lebar dan mendatar pada satu sisi dan sempit pada sisi lainnya (Yatin, 1990). Panjang dan lebar kepala spermatozoa sapi, domba dan babi berkisar 8 - 10 mikron kali 4 - 4,5 mikron, dan tebalnya sekitar 0,5 - 1,5 mikron (Toelihere, 1993). Bagian kepala spermatozoa mengandung materi inti yang mengandung kromosom terdiri dari DNA (*deoxyribonucleic acid*) yang bersenyawa dengan protein. DNA membawa informasi genetik (Foote, 1980). Melalui pembelahan reduksi selama proses spermatogenesis, spermatozoa hanya membawa setengah DNA dari sel-sel somatik yang ada kode kromosom X sex betina dan Y sex jantan. Berikut merupakan morfologi spermatozoa normal:



Gambar 2. Morfologi Spermatozoa Normal (WHO Guideline, 2010)

Abnormalitas pada spermatozoa dapat dibagi menjadi dua yaitu abnormalitas primer dan abnormalitas sekunder. Abnormalitas primer merupakan ketidaknormalan morfologi spermatozoa yang terjadi ketika spermatozoa masih di

buli seminiferi (spermatogenesis). Kelompok abnormalitas ini lebih banyak karena sebagian bersifat genetik sebagai contoh *knobbed acrosome*



defect yang dapat menurunkan fertilitas sehingga memengaruhi keberhasilan inseminasi buatan. Semen dengan persentase abnormalitas cukup tinggi cenderung memiliki fertilitas yang rendah karena berkaitan dengan kemampuan mengawali fertilisasi. Abnormalitas sekunder merupakan morfologi spermatozoa tidak normal yang terjadi selama spermatozoa melewati saluran reproduksi (Ariantie dkk., 2014) atau kelainan spermatozoa yang terjadi akibat tekanan fisik untuk evaluasi semen, misalnya akibat mengacau tabung terlalu keras, penurunan suhu terlalu cepat, suhu pemanasan yang terlalu tinggi, dan atau saat pembuatan sediaan (preparat) yang tidak hati-hati. Berikut merupakan jenis- jenis abnormalitas primer pada sperma:



Gambar 3. Macam-Macam Abnormalitas Primer Spermatozoa (Kemal, 2012)

Dari hasil pemeriksaan abnormalitas spermatozoa ditemukan berupa kepala tanpa ekor, ekor yang Suryadi dan Susilawati (2003), bahwa abnormalitas morfologi spermatozoa diklasifikasikan pada lima kategori yaitu: ekor, bentuk kepala abnormal, bentuk ekor abnormal, bentuk morfologi sel spermatozoa yang dilaporkan oleh Hafez, (2000) berpengaruh terhadap pembuahan, jika jumlah abnormalitas spermatozoa terlalu tinggi maka akan menurunkan fertilitasnya, abnormalitas spermatozoa pada beberapa ternak bervariasi.



Menurut Hafez (2000) menyatakan bahwa abnormalitas spermatozoa pada kambing sebesar 8-10% tidak berpengaruh pada fertilitas, tetapi apabila

abnormalitas melebihi 25% dari total ejakulasi maka akan berpengaruh pada fertilitas. Kemudian Partodhiardjo, (2002) juga menyatakan bahwa abnormalitas yang lebih dari 20% menunjukkan kualitas spermatozoa yang jelek. Spermatozoa yang abnormal biasanya dapat membuahi sel telur, tetapi biasanya akan menyebabkan kematian anak sebelum lahir (Widya, 2010).

2.7. Viabilitas Spermatozoa

Viabilitas merupakan salah satu indikator penentu kualitas semen karena berhubungan dengan daya hidup spermatozoa (Setiadi dkk., 2002). Pemeriksaan hidup dan mati spermatozoa harus dilakukan secara selektif. Perhitungan spermatozoa yang hidup dan yang mati dengan menggunakan zat warna tertentu. Spermatozoa yang mati, permeabilitas membrannya meningkat atau menyerap warna, sedangkan spermatozoa yang hidup tidak menyerap warna. Sel spermatozoa yang tidak menyerap warna akan berwarna jernih sedangkan sel spermatozoa yang menyerap warna akan berwarna seperti diserap (Tambing dkk., 2001).

Sperma yang hidup dapat diketahui dengan pengecatan atau pewarnaan dengan menggunakan eosin. Eosin dapat dibuat dari serbuk eosin yang dilarutkan dalam aquadest dengan konsentrasi 1: 9, kemudian sperma ditetesi dengan larutan eosin dan diratakan, kemudian di angin-anginkan atau di fiksasi dengan menggunakan spiritus, setelah itu dilihat di bawah mikroskop (Mahfud, 2023). Novita *et al.*, (2019) menyatakan bahwa sperma yang tercat atau berwarna merah berarti sperma itu mati, sedangkan yang tidak terwarnai atau tidak tercat berarti sperma itu hidup.

Perbedaan afinitas zat warna antara sel-sel sperma yang mati dan yang hidup digunakan untuk melindungi jumlah sperma hidup secara objektif pada waktu semen



segar dicampur dengan zat warna eosin 2%. Pada spermatozoa yang hidup zat warna eosin yang berikatan dengan natrium dipompakan kembali ke luar sel, karena konsentrasi natrium di dalam sel yang normal lebih rendah dari pada di luar sel, sehingga spermatozoa tetap tidak berwarna. Pada sel spermatozoa yang mati, zat warna eosin diserap oleh spermatozoa, karena aktivitas pompa natrium sudah terhenti, sehingga menyebabkan kepala spermatozoa berwarna merah (Mujahidurrohman dkk., 2023).

