

**PENGARUH LAMA SENTRIFUGASI DAN KUNING TELUR
BERBEDA TERHADAP KINEMATIKA SEMEN KAMBING
SAANEN**

SKRIPSI

SRI WULAN KRISDAYANTI HUTAURUK
I011 20 1225



**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**PENGARUH LAMA SENTRIFUGASI DAN KUNING TELUR
BERBEDA TERHADAP KINEMATIKA SEMEN KAMBING
SAANEN**

SKRIPSI

Oleh:

SRI WULAN KRISDAYANTI HUTAURUK
I011 20 1225

**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 : Sri Wulan Krisdayanti Hutaaruk

NIM : 1011 20 1225

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang saya tulis dengan judul: **Pengaruh Lama Sentrifugasi dan Kuning Telur Berbeda Terhadap Kinematika Semen 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

A 10,000 Rupiah revenue stamp (Meterai Tempel) with a signature over it. The stamp features the Garuda Pancasila emblem and the text 'METERAI TEMPEL' and '10000'. The serial number '12B119A1 X268607/157' is visible at the bottom of the stamp.

Sri Wulan Krisdayanti Hutaaruk

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Skripsi : Pengaruh Lama Sentrifugasi dan Kuning Telur Berbeda Terhadap Kinematika Semen Kambing Suanen

Nama : Sri Wulan Krisdayanti Hutauruk

NIM : 1011 20 1225

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. Desak E. Fatmiah Utamy, S.Pt., M.Agr, IPM
Ketua Program Studi

Tanggal Lulus: 06 Agustus 2024

RINGKASAN

Sri Wulan Krisdayanti Hutaauruk. I011201225. Pengaruh Lama Sentrifugasi Dan Kuning Telur Berbeda Terhadap Kinematika Semen Kambing Saanen. Pembimbing Utama: Muhammad Yusuf dan Pembimbing Anggota: Muhammad Ihsan A. Dagong.

Tris aminomethane kuning telur yang merupakan salah satu bahan pengencer yang dapat dicampurkan ke dalam semen. Pengencer *Tris aminomethane* kuning telur mengandung krioprotektan ekstraseluler, yaitu kuning telur yang mengandung lesitin dan lipoprotein untuk melindungi spermatozoa dari *cold shock*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui lama waktu pencucian semen yang optimal dan jenis pengencer yang terbaik terhadap motilitas dan pola gerakan semen kambing Saanen dengan menggunakan pengencer Tris kuning telur yang berbeda. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap faktorial dengan 2 faktorial, 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 (*Processing* semen). Parameter yang diamati pada penelitian ini adalah motilitas dan pola gerakan. Pengamatan motilitas dan pola gerakan diuji menggunakan Uji *Computer Assisted Semen Analysis* (CASA). Berdasarkan hasil penelitian diperoleh bahwa nilai motilitas tertinggi terdapat pada TKT ayam ras yaitu $65,62 \pm 1,9\%$ dan berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap TKT itik. Pada lama sentrifugasi 15 dan 25 menit berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan 20 menit dengan rata-rata $54,84 \pm 11,49\%$ dan pada pola pergerakan nilai DCL, DAP, DSL, VAP, BCF dan ALH pada jenis pengencer dan lama sentrifugasi tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dengan hasil terbaik berada di 15 menit. Sedangkan nilai LIN dan WOB pada jenis pengencer berbeda nyata ($P < 0,05$), pada nilai VSL 15 dan 20 menit berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan 25 menit, nilai LIN dan WOB 15 dengan 25 menit berbeda nyata ($P < 0,05$) dan STR 15 dan 20 menit berbeda nyata ($P < 0,05$). Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa nilai motilitas dan pola pergerakan spermatozoa terbaik berada penggunaan pengencer TKT ayam ras. Sedangkan lama sentrifugasi nilai motilitas dan pola pergerakan spermatozoa terbaik berada pada lama sentrifugasi 15 menit.

Kata kunci: Kuning Telur Ayam Ras, Kuning Telur Itik, Sentrifugasi,, Kambing Saneen, pengencer motilitas, pola gerakan

SUMMARY

Sri Wulan Krisdayanti Hutauruk. I011201225. The Effect of Different Centrifugation Times and Egg Yolk on Saanen Goat Semen Kinematics. Supervised by: **Muhammad Yusuf** and **Muhammad Ihsan A. Dagong**.

Tris aminomethane egg yolk is one of the diluents that can be mixed into semen. Egg yolk Tris aminomethane diluent contains extracellular cryoprotectant, which is egg yolk containing lecithin and lipoprotein to protect spermatozoa from cold shock. The purpose of this study was to determine the optimal length of time for washing semen and the best type of diluent on motility and movement pattern of Saanen goat semen using different egg yolk Tris diluents. This study used a factorial complete randomized design with 2 factorials, 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 chicken egg yolk, T2 = duck egg yolk) replicated 5 times (Processing semen). The parameters observed in this study were motility and movement patterns. Observations of motility and movement patterns were tested using the Computer Assisted Semen Analysis (CASA) test. Based on the results of the study, it was found that the highest motility value was found in broiler TKT which was $65.62 \pm 1.9\%$ and significantly different ($P < 0.05$) from duck TKT. In the centrifugation length of 15 and 25 minutes significantly different ($P < 0.05$) with 20 minutes with an average of $54.84 \pm 11.49\%$ and in the movement pattern of DCL, DAP, DSL, VAP, BCF and ALH values in the type of diluent and centrifugation length is not significantly different ($P > 0.05$) with the best results being in 15 minutes. While the values of LIN and WOB in the type of diluent were significantly different ($P < 0.05$), at 15 and 20 minutes VSL values were significantly different ($P < 0.05$) with 25 minutes, LIN and WOB values 15 with 25 minutes were significantly different ($P < 0.05$) and STR 15 and 20 minutes were significantly different ($P < 0.05$). Based on the results of the study can be concluded that motility value and movement pattern of the best spermatozoa are in the use of TKT diluent of purebred chicken. While the length of centrifugation and the best spermatozoa movement pattern were at a centrifugation length of 15 minutes.

Keywords: Broiler egg yolk, duck egg yolk, centrifugation, Saanen goat, motility diluent, movement pattern

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur atas kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, yang telah melimpahkan seluruh rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan Skripsi yang berjudul “**Pengaruh Lama Sentrifugasi Dan Kuning Telur Berbeda Terhadap Kinematika Semen 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. Kedua orang tua **L. Hutauruk** dan **B. Sihombing** yang memberikan bantuan, doa dan dukungan bagi penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
2. **Prof. Ir. Muhammad Yusuf, S.Pt., Ph.D., IPU**, selaku pembimbing utama dan **Dr. Ir. 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. Terima kasih kepada diri sendiri **Sri Wulan Krisdayanti Hutauruk** yang masih mampu berjuang memotivasi diri sendiri dan tidak pernah pulang hingga saat ini agar dapat menyelesaikan skripsi ini demi memperoleh gelar S. Pt untuk keluarga.
4. Terima kasih kepada keluarga penulis **Pak Tua Darman, Pak Tua Marusaha, Bou Anto, Bou guntar, Opung, Bismar Hutauruk** serta keluarga yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang turut memberikan bantuan baik berupa moral dan moril serta motivasi yang telah diberikan dalam menyelesaikan skripsi ini.

5. Kepada teman seperjuangan **Annisa Zahrany, Herlin Endcy Mangalla , Sastria Manjorang** dan **Putri Sakinah** terima kasih telah menjadi tempat berkeluh kesah penulis selama mengerjakan skripsi ini.
6. Terima kasih kepada teman dari daerah asal penulis **Clara Alverna, Wilantika Sianturi, Eva Sihombing, Noveria Tanti, Cindy, Elsa, Theresia dan kak Nur** yang turut memberikan bantuan baik berupa materi, moral dan moril serta motivasi yang telah diberikan dalam menyelesaikan skripsi ini.
7. Teman-teman **APM21 HIMAPROTEK-UH, MBKM, CROWN-20** dan **POSKO-2** terima kasih atas segala bantuannya dalam penyelesaian skripsi ini.
8. Serta semua pihak yang turut membantu terselesaikannya skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

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 pada umumnya dan bagi kami pada khususnya.

Makassar, 12 Agustus 2024

Sri Wulan Krisdayanti H

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Kambing Saanen	5
2.2. Kualitas Semen Kambing.....	6
2.3. Pencucian Semen	11
2.4. SimpanmBeku.....	13
2.5. Tris Kuning Telur	15
2.6. Kinematika Spermatozoa	17
BAB III METODE PENELITIAN.....	21
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian.....	21
3.2. Materi Penelitian.....	21
3.3. Tahapan dan Prosedur Penelitian.....	21
3.4. Analisis Data	29
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	31
4.1. Kualitas Semen Segar Kambing Saanen.....	31
4.2. Kinematika Spermatozoa Semen Segar Kambing Saanen.....	34
4.3. Motilitas Spermatozoa Kambing Saanen Setelah Sentrifugasi dengan Lama Waktu yang Berbeda Menggunakan Pengencer TKT Ayam Ras dan TKT Itik.....	35
4.4. Kinematika Spermatozoa Kambing Saanen Setelah Sentrifugasi dengan Lama Waktu yang Berbeda Menggunakan Pengencer TKT Ayam Ras dan TKT Itik.....	38
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	47
5.1. Kesimpulan	47
5.2. Saran	47
DAFTAR PUSTAKA	48
LAMPIRAN.....	59

DAFTAR TABEL

No.	Halaman
1. Tabel 1. Kualitas Semen Segar Kambing Saanen.....	31
2. Tabel 2. Kinematika Semen Segar Kambing Saanen.....	34
3. Tabel 3. Motilitas Spermatozoa Kambing Saanen Setelah Sentrifugasi dengan Lama Waktu yang Berbeda Menggunakan Pengencer TKT Ayam Ras dan TKT Itik	35
4. Tabel 4. Jarak Tempuh Spermatozoa Kambing Saanen Setelah Sentrifugasi dengan Lama Waktu yang Berbeda Menggunakan Pengencer TKT Ayam Ras dan TKT Itik	39
5. Tabel 5. Kecepatan Spermatozoa Kambing Saanen Setelah Sentrifugasi dengan Lama Waktu yang Berbeda Menggunakan Pengencer TKT Ayam Ras dan TKT Itik	41
6. Tabel 6. Pola Gerak Spermatozoa Kambing Saanen Setelah Sentrifugasi dengan Lama Waktu yang Berbeda Menggunakan Pengencer TKT Ayam Ras dan TKT Itik	44

DAFTAR GAMBAR

No.	Halaman
1. Kambing Saanen	5
2. Kinematika Spermatozoa	20
3. Diagram Alir Penelitian	23

DAFTAR LAMPIRAN

No.	Halaman
1. Lampiran 1. Hasil Analisis Ragam	59
2. Lampiran 1. Dokumentasi.....	71

BAB I

PENDAHULUAN

Kambing adalah hewan ternak yang tersebar di seluruh dunia, jumlah populasi ternak kambing terus meningkat secara berkelanjutan hingga mencapai 18.410.379 ekor (Maesya dan Rusdiana, 2018). Kambing Saanen dikenal sebagai kambing penghasil susu terbaik di Indonesia. Susu pada kambing ini memiliki komposisi gizi seperti lemak, protein, abu, mineral makro, dan beberapa vitamin, yang lebih tinggi dari pada susu sapi. Meskipun demikian, popularitas susu kambing belum sebesar susu sapi di kalangan masyarakat. Sehingga untuk meningkatkan mutu genetik dan produktivitas susu dari kambing lokal dapat dilakukan persilangan antara kambing lokal dengan kambing Saanen dengan menerapkan teknologi reproduksi bantuan seperti Inseminasi Buatan (IB) (Fitriana dkk., 2021). Inseminasi Buatan (IB) adalah bentuk bioteknologi reproduksi yang diterapkan dengan maksud untuk meningkatkan jumlah, produktivitas, dan kualitas genetik ternak.

Teknologi IB dianggap sebagai metode paling berhasil dalam meningkatkan populasi dan produktivitas ternak serta banyak diterima oleh masyarakat khususnya peternak (Susilawati, 2014). Akan tetapi perlu diketahui keberhasilan program IB ditentukan oleh kualitas semen terutama pada motilitas atau pola gerak semen segar, setelah diencerkan dan dibekukan. Sehingga dibutuhkan pengencer sperma yang berkualitas yang mudah ditemukan, terjangkau serta memiliki komposisi yang serupa dengan sifat fisik dan kimiawi sperma, mampu mempertahankan pH semen yaitu 6,8-7, mensuplai nutrisi sebagai penghasil energi, mempertahankan dari *cold*

shock (kejutan dingin) dan tidak memiliki efek toksik terhadap spermatozoa atau sistem reproduksi betina (Ismaya, 2014).

Pengencer tris aminometan kuning telur merupakan salah satu bahan yang terjangkau dan digunakan sebagai pengencer komersial semen yang mengandung komponen nutrisi dan membantu menjaga kualitas sperma supaya tidak mengalami kerusakan. Pada pengencer tris aminomethane kuning telur mengandung krioprotektan ekstraseluler berupa kuning telur yang mengandung lesitin dan lipoprotein yang dapat melindungi spermatozoa dari *cold shock*, sumber energi berupa laktosa, fruktosa dan rafinosa (Rhochim dkk., 2017). Penggunaan kuning telur ayam dan itik umum digunakan sebagai pengencer yang memiliki fungsi dan manfaat yang sama dalam menjaga kualitas semen, diketahui bahwa kuning telur itik mempunyai kandungan lemak lebih tinggi dibandingkan dengan kuning telur ayam sebesar 35,2% dan 32,6% (Djaelani, 2012) dengan motilitas dan viabilitas terbaik 59%-63% dan 68,1%-74,2% (Ihsan, 2011).

Penggunaan pengencer Tris kuning telur menimbulkan masalah dalam semen kambing karena keberadaan enzim dalam plasma semen yaitu fosfolipase A yang diidentifikasi sebagai enzim yang dapat menghidrolisis lesitin dalam kuning telur menjadi asam lemak dan lisolesitin. Asam lemak dan lisolesitin hasil penguraian ini bersifat beracun bagi spermatozoa kambing (Leboeuf *et al.*, 2000). Enzim ini dihasilkan oleh kelenjar *bulbouretralis* (kelenjar Cowper) dan ketika berinteraksi dengan kuning telur atau susu, dapat menyebabkan penggumpalan (koagulasi) semen. Sehingga dibutuhkan metode untuk mengatasi masalah tersebut yaitu pencucian semen dengan cara disentrifugasi. . Akan tetapi, teknik ini dapat memiliki dampak buruk pada spermatozoa karena dapat meningkatkan

pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) setelah disentrifugasi (Agarwal *et al.*, 2003). Selain itu, kecepatan dan lama waktu sentrifugasi dapat mengakibatkan kerusakan membran spermatozoa serta mengganggu metabolisme dan daya hidup maupun motilitas spermatozoa oleh *Reactive Oxygen Species* (ROS). Namun jika dilakukan dengan baik, pencucian semen akan meningkatkan kualitas spermatozoa seperti menentukan kecepatan dan lama waktu sentrifugasi yang tepat. Penelitian Bintara (2010) menunjukkan bahwa kecepatan sentrifugasi 1500 rpm dengan lama waktu 20 menit menghasilkan persentase motilitas terbaik.

Semen yang baik adalah semen yang memiliki motilitas spermatozoa dan pola pergerakan spermatozoa yang aktif sehingga dapat terjadi proses fertilisasi. Motilitas dan pola pergerakan adalah unsur yang sangat penting dalam fertilisasi, karena motilitas dan pola pergerakan merupakan salah satu faktor yang menentukan gambaran spermatozoa yang sehat. Motilitas atau daya gerak spermatozoa dinilai segera setelah penampungan semen berperan penting sebagai ukuran kesanggupan semen dalam membuahi sel telur atau ovum. Maka jika motilitas dan pola pergerakan spermatozoa tinggi maka semakin tinggi pula tingkat fertilitas pada sperma kambing. Fertilitas merupakan suatu proses kompleks yang dipengaruhi oleh banyak faktor seperti fisiologi, nutrisi, manajemen dan lingkungan (Syarifuddin dkk., 2018). Fertilitas sperma yang tinggi pada sapi pejantan dapat meningkatkan angka konsepsi, angka kebuntingan dan angka kelahiran, sehingga dapat meningkatkan jumlah populasi kambing Saanen.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui perbandingan kualitas semen terhadap kinematika spermatozoa setelah di sentrifugasi dengan menggunakan tris kuning telur yang berbeda pada semen kambing Saanen. Oleh karena itu perlu

dilakukan penelitian tentang kambing Saanen yang didasari pada pengaruh lama sentrifugasi dan kuning telur berbeda terhadap kinematika semen kambing Saanen, 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 lama waktu pencucian semen yang optimal dan jenis pengencer yang terbaik terhadap motilitas dan pola gerakan semen kambing Saanen dengan menggunakan pengencer Tris kuning telur yang berbeda. Adapun kegunaan dari penelitian ini diharapkan mampu menjadi sumber informasi terkait pada pengaruh lama sentrifugasi dan kuning telur berbeda terhadap kinematika semen kambing Saanen.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Performa Kambing Saanen

Kambing Saanen, berasal dari Lembah Saanen di Swiss bagian barat, merupakan jenis kambing terbesar di negara tersebut. Kambing ini peka terhadap sinar matahari dan ciri fisiknya termasuk telinga tegak, bulu putih dominan, dan kadang-kadang memiliki bercak hitam di hidung, telinga, atau ambing. Kambing Saanen tipe dwiguna, tanpa tanduk, memiliki postur tubuh besar yang menghasilkan banyak daging saat dipotong, dan betinanya mampu menghasilkan lebih dari 740 kg susu selama masa laktasi 250 hari. Indonesia pada tahun 1978 pernah mengekspor kambing Saanen ke Australia, dan keturunannya banyak tersebar di Jawa Barat dan Jawa Tengah untuk memperbaiki mutu genetik kambing lokal (Sodiq dan Abidin, 2008). Menurut Ardiansyah dkk (2022), kambing Saanen unggul dalam produksi susu, dengan kemampuan menghasilkan susu hingga 3,8 liter/ekor/hari.



Gambar 1. Kambing Saanen (Hastuti, 2023)

Bobot badan anak jantan yang baru lahir 3,3 kg dan bobot badan anak betina 3 kg. Silva *et al.* (2011) menyatakan bahwa Saanen dapat mengadaptasi diri pada

kondisi lingkungan baru melalui respon fisiologis, yang dapat memengaruhi kinerja produksinya. Yilmaz *et al.* (2016) juga menambahkan rata-rata produksi susu Saanen lebih tinggi dibandingkan dengan kambing perah lainnya. Kambing juga mempunyai masa bunting antara 149 – 154 hari, jarak beranak 221 – 253 hari, serta bobot badan jantan dewasa 23 – 40 kg dan betina 21 – 35 kg (Muryanto dan Pramono 2012).

2.2. Kualitas Semen Kambing

Semen adalah substansi kelamin jantan yang umumnya diejakulasikan ke saluran kelamin betina selama kopulasi, tetapi juga dapat disimpan dengan berbagai metode untuk inseminasi buatan (Toelihere, 1993). Garner dan Hafez (2000) mendefinisikan semen sebagai cairan atau suspensi semi-gelatin dari organ reproduksi jantan yang mengandung sel-sel gamet jantan atau spermatozoa serta sekresi dari organ aksesoris saluran reproduksi jantan. Secara umum, semen kambing memiliki warna abu-abu hingga kekuningan, dengan volume ejakulasi rata-rata sekitar satu mililiter (ml) serta antara 0,5-1,2 ml. Komponen utama semen kambing terdiri dari plasma dan spermatozoa (Evans dan Maxwell, 1987).

Semen yang telah dikumpulkan akan dievaluasi dalam keadaan segar dengan tujuan untuk menentukan kualitasnya. Kualitas semen dapat dipengaruhi oleh sejumlah faktor, termasuk ras, usia, pola makan, suhu lingkungan, musim, dan frekuensi ejakulasi. Perbedaan usia ternak dapat memainkan peran signifikan dalam menentukan kualitas semen yang dihasilkan. Ternak yang masih muda atau terlalu tua cenderung menghasilkan semen dengan kualitas yang kurang optimal karena organ reproduksinya belum mencapai kematangan optimal atau mengalami penurunan fungsi reproduksi (Prasetyo dkk., 2020).

Evaluasi semen merupakan salah satu indikator untuk meramalkan kemampuan pejantan dalam menjalankan proses fertilisasi. Terdapat berbagai metode yang dapat digunakan untuk mengevaluasi kualitas semen, walaupun hanya beberapa di antaranya yang umumnya diterapkan secara praktis (Moradpour, 2019). Parameter yang diandalkan untuk menilai kualitas semen melibatkan aspek makroskopik dan mikroskopik. Parameter makroskopik mencakup observasi terhadap volume, warna, konsistensi, dan tingkat keasaman atau pH semen. Sementara itu, parameter mikroskopik melibatkan pengamatan menggunakan mikroskop terkait dengan konsentrasi, motilitas, kelainan, viabilitas, dan kinematika spermatozoa (Rahayu, 2014; Cenariu *et al.*, 2018; Moradpour, 2019).

Volume semen pada kambing dapat diperoleh melalui berbagai metode, seperti menggunakan gelas penampungan berskala atau lebih akurat lagi dengan menggunakan pipet ukur. Saat penampungan semen dilakukan pada kambing melalui vagina buatan, volume yang didapatkan biasanya sekitar 1 ml, namun dapat bervariasi tergantung pada faktor-faktor seperti umur, kondisi kesehatan hewan, frekuensi penampungan, dan tingkat keahlian operator (Evans dan Maxwell, 1987). Menurut Cole dan Cupps (1997) bahwa volume semen pada kambing per ejakulat berkisar antara 0,5 hingga 2 ml. Sedangkan Hafez dan Hafez (2000) menyatakan rentang volume semen kambing per ejakulat sekitar 0,5 hingga 1,2 ml, dengan rata-rata sekitar 1 ml. Faktor-faktor yang memengaruhi volume semen melibatkan perbedaan bangsa, umur, ukuran badan, nutrisi, frekuensi penampungan, dan berbagai variabel lainnya. Pemahaman terhadap variabilitas ini penting dalam konteks manajemen reproduksi dan pemuliaan ternak.

Warna Semen pada kambing umumnya memiliki warna normal putih atau krem ketika konsentrasi spermatozoa dalam semen tinggi. Warna kuning terkadang muncul, disebabkan oleh oleh riboflavin yang dibawa oleh satu gen autosom resesif dan tidak mempunyai pengaruh terhadap fertilitas (Feradis, 2010). Sementara itu, warna merah gelap sampai merah muda menandakan adanya darah segar dalam jumlah berbeda. Warna coklat-kecoklatan menunjukkan adanya darah yang mengalami dekomposisi. Suatu warna coklat muda atau warna kehijau-hijauan menunjukkan kemungkinan kontaminasi dengan feses (Toelihere, 1985).

Konsistensi atau kekentalan semen segar dapat diperlihatkan dengan memiringkan tabung semen secara perlahan dan mengembalikan semen ke posisi semula. Dari pengamatan ini, dapat ditentukan apakah cairan semen tersebut memiliki konsistensi yang encer, sedang, atau kental. Semen kambing umumnya memiliki konsistensi kental dan berwarna krem. Semen yang cair dan berwarna, atau hanya sedikit keruh, memiliki konsentrasi sekitar 100 juta sel spermatozoa per ml, sedangkan yang jernih seperti air memiliki konsentrasi kurang dari 50 juta per ml (Feradis, 2010). Konsistensi semen ini bergantung pada rasio kandungan spermatozoa dan plasma seminal. Semakin kental semen dapat diartikan bahwasemakin tinggi konsentrasinya (Yendraliza dkk., 2015)

Derajat keasaman semen sangat mempengaruhi daya tahan hidup spermatozoa. Perubahan pH disebabkan oleh metabolisme spermatozoa dalam keadaan anaerob yang menghasilkan asam laktat yang semakin meningkat. Derajat keasaman (pH) diukur dengan pH meter atau kertas lakmus, dan nilai pH normal semen sekitar 7,0 (Partodihardjo, 1982). Semen yang berkualitas baik mempunyai pH sedikit asam (Bearden dan Fuquay, 1984), yaitu lebih kecil dari 7,0 dengan rata-

rata 6,7. Menurut Garner dan Hafez (2000) pada umumnya semen memiliki kisaran pH netral. pH semen dipengaruhi oleh konsentrasi spermatozoa di dalamnya; semakin tinggi konsentrasi, semakin rendah pH semen. Hal ini disebabkan oleh produksi asam laktat yang meningkat seiring dengan jumlah spermatozoa, menjadikan semen semakin asam atau pH semakin rendah (Herdis dan Rizal, 2008).

Bau semen yang normal, pada umumnya, memiliki bau amis khas disertai dengan bau dari hewan itu sendiri. Bau busuk bias terjadi apabila semen mengandung nanah yang disebabkan oleh adanya infeksi organ atau saluran reproduksi hewan jantan. Pemeriksaan bau semen dapat dilakukan dengan cara 7 memegang tabung semen pada posisi tegak lurus. Dekatkan tabung ke bagian muka pemeriksa dan lewatkan mulut tabung tersebut di bawah lubang hidung. Pada saat tabung melewati lubang hidung, tarik nafas perlahan sampai bau semen tercium (Yendraliza dkk., 2015).

Konsentrasi spermatozoa atau jumlah spermatozoa dalam setiap mililiter semen, menjadi parameter kualitas semen yang sangat penting. Penentuan jumlah betina yang dapat diinseminasi menggunakan semen tersebut bergantung pada konsentrasi spermatozoa. Semen kambing berkualitas baik biasanya memiliki konsentrasi sekitar 2500-5000 juta/ml (Evans dan Maxwell, 1987). Penilaian ini menjadi kunci dalam menentukan kualitas semen dan mengatur jumlah pengencer yang diperlukan (Bearden dan Fuquay, 1984).

Motilitas atau daya gerak spermatozoa merupakan ukuran kemampuan spermatozoa dalam membuahi sel telur, menjadi parameter penting dalam penilaian kualitas semen (Munazaroh dkk., 2013). Menurut Evans dan Maxwell (1987) terdapat tiga tipe pergerakan spermatozoa yaitu pergerakan progresif (maju ke

depan), pergerakan rotasi (gerakan berputar) dan osilator atau konvulsif tanpa pergerakan ke depan atau perpindahan posisi. Gerakan spermatozoa yang diinginkan adalah pergerakan progresif atau gerakan maju ke depan, sedangkan gerakan melingkar atau mundur sering kali menunjukkan adanya *cold shock* atau media yang tidak isotonik dengan semen. Gerakan berayun atau berputar di tempat, terutama pada semen yang sudah tua, dapat menjadi tanda bahwa sebagian besar spermatozoa telah berhenti bergerak dan dianggap mati (Feradis, 2007).

Pemeriksaan motilitas sperma merupakan satu-satunya cara penentuan kualitas semen sesudah pengenceran. Menurut Yendraliza dkk., (2015) Motilitas sperma kambing pada umumnya berkisar antara 75% sampai dengan 85% tetapi kisaran tersebut tidak menjadi patokan karena beberapa jenis kambing mempunyai motilitas sperma di bawah kisaran tersebut. Faktor-faktor yang mempengaruhi motilitas spermatozoa adalah umur spermatozoa, maturasi spermatozoa, penyimpanan energi (ATP), agen aktif, biofisik dan fisiologi, cairan suspensi dan adanya rangsangan hambatan (Triana, 2006). Metode penampungan semen, lingkungan, penanganan dan perawatan semen sesudah penampungan, interval antara penampungan dan evaluasi semen, variasi pejantan serta variasi musim juga faktor penting dalam mempengaruhi motilitas spermatozoa (Zalyazaini dkk, 2016).

Viabilitas spermatozoa, atau kehidupan spermatozoa, menjadi syarat mutlak bagi terjadinya fertilisasi (Munazaroh dkk., 2013). Persentase viabilitas merupakan salah satu indikator untuk menentukan baik-buruknya kualitas semen. Pemeriksaan hidup dan mati spermatozoa dapat dilakukan secara selektif dengan menggunakan pewarnaan eosin. Sperma yang berwarna merah menandakan

spermatozoa yang mati, sementara yang tidak terwarna menandakan spermatozoa yang masih hidup (Mulyono, 1998).

Abnormalitas spermatozoa berkorelasi positif dengan fertilitas pejantan. Jika saat ejakulasi terdapat lebih dari 20% spermatozoa abnormal, fertilitas pejantan tersebut dapat dipertanyakan (Susilawati, 2011). Garner dan Hafez (2000) menyatakan bahwa semen kambing umumnya memiliki persentase spermatozoa abnormal antara 5% hingga 20%. Adanya abnormalitas dapat terlihat dari kepala sperma yang sangat kecil atau besar, kepala ganda, bentuk seperti per, badan atau ekor ganda, dan kepala terputus dari badan (Tolihere, 1993).

2.3. Pencucian Semen Kambing

Dalam upaya meningkatkan angka fertilitas pada proses fertilisasi, yang harus dilakukan adalah pemisahan spermatozoa dari plasma seminalis melalui proses pencucian. Pencucian semen merupakan suatu metode untuk memisahkan spermatozoa motil dari yang immotil, serta memisahkan komponen plasma seminalis, agen krioprotektan, dan bahan-bahan lain yang dapat mempengaruhi kualitas spermatozoa (Check *et al.*, 1998; Hardjopranjoto, 2006). Plasma seminalis mengandung berbagai komponen organik dan anorganik, termasuk hormon dan protein. Salah satu protein yang terdapat dalam plasma seminalis kambing adalah *Insulin Like Growth Factor – I (IGF-I) Complex*, suatu protein kompleks yang terdiri dari satu molekul IGF-I, satu molekul *Insulin Like Growth Factor Binding Protein (IGFBP)*, dan satu molekul *Acid Label Subunit (ALS)* dengan berat molekul 150 kD (Susilowati, 2007).

Metode pencucian spermatozoa yang umum digunakan adalah metode sentrifugasi. Perlu diketahui bahwa teknik ini dapat memiliki dampak buruk,

terutama dalam meningkatkan pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) oleh spermatozoa (Agarwal *et al.*, 2003). *Reactive Oxygen Species* yang berlebihan akibat sentrifugasi semen dapat memengaruhi lipid membran, terutama asam lemak poli tak jenuh, menyebabkan peroksidasi lipid. Hal ini dapat mengganggu integritas membran plasma spermatozoa dan tudung akrosom. Penelitian oleh Sardjito (2004) menunjukkan bahwa proses sentrifugasi dengan kecepatan 1800G, 2400G dan 2800G dapat menyebabkan kerusakan pada membran spermatozoa serta penurunan daya tahan hidup spermatozoa. Oleh karena itu, menjaga keutuhan membran spermatozoa menjadi kritis untuk memastikan terjadinya fertilisasi.

Namun jika dilakukan dengan baik, pencucian semen akan meningkatkan kualitas spermatozoa seperti penentuan kecepatan dan lama waktu sentrifugasi, serta penggantian plasma semen merupakan metode yang dapat ditempuh untuk tetap memberikan suplai nutrisi dan senyawa-senyawa lain yang dibutuhkan oleh spermatozoa yang terdapat di dalam pengencer untuk mempertahankan pH medium serta senyawa krioprotektan (Souhoka dkk., 2009). Spermatozoa sendiri memiliki membran sel yang kompleks, terdiri dari 43% lipid, 48% protein, dan 9% karbohidrat (Darnell *et al.*, 1990). Sehingga dibutuhkan pengencer yang memiliki kandungan seperti kandungan spermatozoa salah satunya yaitu tris kuning telur. 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 (Sarwono, 1995).

2.4. Simpan Beku Semen Kambing

Prinsip dasar pengembangan penyimpanan spermatozoa adalah bahwa daya hidup spermatozoa selama perpanjangan waktu penyimpanan berkorelasi terbalik dengan aktivitas metabolismenya, maka dikembangkan teknik penyimpanan semen pada suhu rendah yaitu suhu 4-5⁰C dalam refrigerator, dan pada suhu beku dalam nitrogen cair (usmawati dkk., 2016). Simpan beku semen (*semen cryopreservation*) merupakan penyimpanan semen pada suhu sangat rendah dalam nitrogen cair, dengan medium simpan beku tertentu sebagai protektor. Simpan beku semen digunakan untuk menanggulangi masalah dalam reproduksi. Hal yang perlu dipertimbangkan dalam simpan beku semen adalah penggunaan medium simpan beku. Medium simpan beku digunakan untuk mempertahankan agar spermatozoa tidak mengalami kerusakan selama simpan beku (Mumu, 2019). Untuk menghasilkan semen beku yang berkualitas tinggi dibutuhkan bahan pengencer semen yang mampu mempertahankan kualitas spermatozoa selama proses pendinginan, pembekuan, maupun pada saat thawing (Aboagla dan Terada, 2004).

Upaya untuk mempertahankan agar spermatozoa tidak mengalami kerusakan selama simpan beku, adalah dengan cara menambah semen dengan medium tertentu sebelum dilakukan simpan beku. Medium simpan beku spermatozoa umumnya mengandung *buffer* dan *cryoprotectant*. Medium yang digunakan pada simpan beku semen antara lain gliserol. Gliserol dalam medium merupakan *cryoprotectant* yang dapat melindungi spermatozoa dari kerusakan selama proses pendinginan berlangsung (Kusumaningrum, 2002). Gliserol akan berdifusi, menembus dan memasuki spermatozoa dan akan digunakan untuk aktivitas metabolisme oksidatif, menggantikan sebagian air yang bebas dan

menurunkan konsentrasi elektrolit intraseluler dan mengurangi daya rusaknya terhadap spermatozoa dengan jalan memodifikasi pembentukan kristal-kristal es (Tambing *et al.*, 2000). Pembentukan kristal es selama proses kriopreservasi sel spermatozoa menyebabkan terjadinya penumpukan elektrolit di dalam sel. Hal tersebut mengakibatkan terjadi kerusakan sel secara mekanik. Elektrolit yang menumpuk akan merusak dinding sel sehingga pada waktu pencairan kembali permeabilitas membran plasma akan menurun dan sel akan mati. Pembentukan kristal es kemungkinan berkaitan dengan perubahan tekanan osmotik dalam fraksi yang tidak mengalami pembekuan (Watson 2000).

Pengaruh yang ditimbulkan pada sel spermatozoa akibat pembentukan kristal es ialah penurunan motilitas dan viabilitas spermatozoa, peningkatan pengeluaran enzim intraseluler ke luar sel, dan kerusakan pada berbagai organel seperti lisosom dan mitokondria (Dhami dan Sahni, 1993). Untuk mencegah kejutan dingin dan pembentukan Kristal es sampai kelapisan membran sperma ditambahkan senyawa krioprotektan dalam pengencer. Krioprotektan ialah zat kimia *nonelektrolit* yang berperan dalam mengurangi pengaruh mematikan selama pembekuan baik berupa pengaruh larutan maupun adanya pembentukan kristal es sehingga viabilitas sel dapat dipertahankan. Krioprotektan yang paling banyak digunakan dalam pembekuan semen hewan mamalia yaitu gliserol. Kuning telur terdapat lemak yang tersusun atas gliserol dan kolesterol. Komponen tersebut diketahui dapat mempertahankan integritas sel pada saat terjadi penurunan suhu (Djaelani, 2012). kuning telur mengandung lipoprotein dan lesitin yang dapat mengurangi efek *cold shock* bagi spermatozoa, sehingga kerusakan pada saat pengenceran, pendinginan dan pembekuan berkurang. Kuning telur dapat

menyebabkan ketidakstabilan pada membran dan perubahan pada konsentrasi struktur matrik lipid akibat terjadi hidrolisis lesitin kuning telur menjadi isolilesitin dan asam lemak yang dikatalis oleh enzim fosfolipase A yang disekresi oleh kelenjar bulbouretralis (Hartono, 2008). Dosis optimum gliserol dalam pengencer semen kambing sebesar 6-8% (Sinha *et al.*, 1992, Das dan Rajkonwar, 1994, Tambing *et al.*, 2000).

2.5. Tris Kuning Telur

Tris kuning telur adalah salah satu pengencer yang banyak digunakan dan mampu mempertahankan kualitas semen cair. Larutan penyangga tris kuning telur dianggap baik karena memiliki tekanan osmotik, keseimbangan elektrolit, dan pH yang optimal (Affandhy *et al.*, 2003). Penggunaan pengencer tris juga melibatkan penambahan kuning telur, yang mengandung lipoprotein dan lesitin, untuk mengurangi dampak *cold shock* pada spermatozoa. Hal ini mengurangi risiko kerusakan saat proses pengenceran, pendinginan, dan pembekuan. Tris kuning telur sebagai bahan pengencer semen berperan sebagai sumber energi melindungi spermatozoa dari kejutan dingin dan menjaga keseimbangan selama proses pengenceran semen (Novita *et al.*, 2019). 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). Herdis *et al.*, 2005 dan Tambing *et al.*, 2008 melaporkan kombinasi kuning telur 20% dalam dari total pengencer sangat efektif mempertahankan kualitas semen beku kambing Saanen.

Telur ayam Ras utuh terdiri atas beberapa komponen, yaitu air 66 % dan bahan kering 34 % yang tersusun atas protein 12 %, lemak 10 %, karbohidrat 1 %,

dan abu 11 %. Kuning telur adalah salah satu komponen yang mengandung nutrisi terbanyak dalam telur. Kuning telur mengandung air sekitar 48% dan lemak 33% (Akoso, 1993). Sedangkan telur itik utuh terdiri atas beberapa komponen, yaitu air 47%, lemak 35%, protein 27%, karbohidrat 0,8%, abu 1,2% (Winarno dan Koswara, 2002). Menurut Mutiah (2003), jika dibandingkan telur ayam, telur itik memiliki nilai nutrisi lebih tinggi terutama kalori, protein, lemak kalsium, dan vitamin A, serta volumenya lebih besar dari telur ayam. Toelihere (1985) menambahkan bahwa kuning telur itik mengandung glukosa yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber energi bagi spermatozoa yang dapat digunakan untuk bergerak aktif.

Tris kuning telur berfungsi sebagai penyangga, stabilisasi pH, pemeliharaan tekanan osmotik, dan keseimbangan elektrolit, serta perlindungan terhadap spermatozoa dari kejutan dingin (*Cold shock*) melalui kandungan fruktosa dan asam sitrat. Penggunaan kuning telur sebagai pengencer semen dianggap praktis karena harganya terjangkau, mudah didapatkan, dan kandungan nutrisinya dapat memenuhi kebutuhan spermatozoa (Wungo *et al.*, 2023). Tris Kuning Telur (TKT) mengandung berbagai komponen seperti Tris (*hydroxymethylaminometan*), asam sitrat, dan fruktosa, yang bersifat relatif lengkap. Komponen-komponen ini dalam tris kuning telur berperan dalam menjaga stabilitas pH, mempertahankan tekanan osmotik, menjaga keseimbangan elektrolit, mengikat butir-butir lemak, menyediakan sumber energi, dan melindungi sel spermatozoa dari dampak *cold shock* (Nabila *et al.*, 2018).

2.6. Kinematika Spermatozoa

Kinematika atau pola pergerakan spermatozoa sangat menentukan fertilitas pejantan. Hal ini sangat penting untuk proses kapasitasi di dalam saluran organ reproduksi betina. Menurut Gallagher *et al.* (2019), kinematika spermatozoa merupakan dinamika pergerakan kepala spermatozoa ketika bergerak di lintasan yang dibuatnya. Pola pergerakan dan jarak yang ditempuh oleh spermatozoa di dalam saluran organ reproduksi betina, dalam menunjang fertilitas tinggi harus dapat mencapai target tempat fertilisasi, dan mempunyai kemampuan memfertilisasi sel telur (Haryati, 2017).

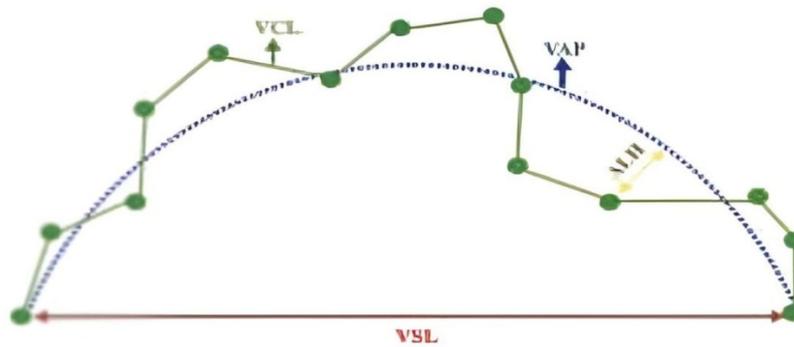
Pengukuran kinematika spermatozoa memiliki relevansi dalam memprediksi fertilitas spermatozoa, karena proses fertilisasi berhasil atau tidaknya ditentukan oleh kecepatan dan pola pergerakan spermatozoa. Menurut Maylem *et al.* (2018) parameter kinematika spermatozoa memberikan gambaran objektif tentang motilitas, yang merupakan indikator kualitas utama dan sangat mempengaruhi fertilitas spermatozoa. Perlakuan terhadap semen, seperti penambahan bahan pengencer, pendinginan, dan pembekuan, telah diketahui dapat memodifikasi kinematika spermatozoa. Secara umum, pemeriksaan kualitas spermatozoa dapat dengan mudah dilakukan di balai produsen semen melalui pengujian motilitas. Pengujian motilitas spermatozoa menjadi parameter kritis yang memberikan informasi tentang potensi fertilisasi. Saat ini, pengujian motilitas umumnya dilakukan secara visual menggunakan mikroskop cahaya, yang memiliki tingkat subyektifitas tinggi. Oleh karena itu, diperlukan pengalaman, keterampilan, dan keahlian penguji untuk menilai gerakan spermatozoa secara objektif (Sarastina dkk., 2010).

Pengamatan kualitas semen harus dilakukan segera setelah penampungan semen. Saat ini pengujian kualitas maupun kinematika semen dapat dilakukan dengan *Computer Assisted Semen Analysis* (CASA). Penggunaan teknologi digital-image dalam metode ini bertujuan untuk menghasilkan analisis spermatozoa yang cepat, akurat, serta mampu meningkatkan dan menstandarkan pengujian parameter motilitas spermatozoa. Simmet (2004) menyatakan, perlakuan ini sebagai langkah yang relevan untuk mengevaluasi fertilitas. Beberapa parameter yang dapat terdeteksi oleh CASA antara lain (Susilawati, 2013):

1. *Distance average path* atau DAP (μm) adalah jarak (μm) dari rata-rata jalan sel spermatozoa dari awal sampai akhir masa analisis.
2. *Distance curvilinear* atau DCL (μm) adalah jarak yang dapat ditempuh oleh spermatozoa dalam satu detik pada lintasan *curve* dari awal sampai akhir periode analisis.
3. *Distance straight line* atau DSL (μm) adalah jarak yang ditempuh spermatozoa dalam satu garis lurus dari frame pertama ke frame terakhir masa analisis.
4. *Average Path Velocity* atau VAP ($\mu\text{m}/\text{detik}$) adalah waktu rata-rata kecepatan dari spermatozoa sepanjang alur jalannya.
5. *Straight Line Velocity* atau VSL ($\mu\text{m}/\text{detik}$) adalah waktu kecepatan rata-rata spermatozoa pada garis lurus diantara awal gerak sampai akhir gerak saat deteksi.
6. *Curve Linear Velocity* atau VCL ($\mu\text{m}/\text{detik}$) adalah kecepatan rata-rata dari titik gerak sepanjang alur.

7. *Straightness* atau STR (%) adalah hubungan antara kecepatan dari garis lurus dengan kecepatan pada rata-rata alurnya selama periode pengukuran (hasil dari VSL/VAP).
8. *Linearity* atau LIN (%) adalah hubungan antara kecepatan garis lurus dan kecepatan garis melengkung selama periode pengukuran (hasil dari VSL/VCL).
9. *Wobble* (WOB) adalah hubungan antara rata-rata kecepatan jalan dengan kecepatan garis melengkung selama periode pengukuran. (hasil dari VAP/VCL)
10. *Amplitudo of Lateral Head movement* atau ALH (μm) adalah jarak dari lateral letak gerakan kepala spermatozoa pada setiap rata-rata alur.
11. *Beat Cross Frequency* atau BCF (Hz) adalah rata-rata alur curva linier spermatozoa melewati rata-rata alurnya.

CASA (*Computer-Assisted Sperm Analysis*) digunakan untuk mengukur parameter kinematika spermatozoa, termasuk kecepatan gerak, rasio kecepatan, dan karakteristik ayunan spermatozoa (Sumarsono dkk., 2022). Pengujian tahap pertama menggunakan CASA meliputi informasi spermatozoa yang bergerak motil dan motil progresif, tahap kedua penilaian hiperaktif, linier, non linier dan curva linier dan tahap ketiga adalah analisis untuk data sel secara detail seperti VAP, VSL, VCL, LIN, STR dan BSF (Susilawati, 2013). VCL, VSL, VAP, ALH, dan BCF merupakan parameter utama, sementara (LIN, STR, dan WOB) adalah ukuran rasio dari parameter-parameter utama (Soler *et al.*, 2017).



Keterangan :

- - Centroids
- - Lintasan Curvilinear
- - - Lintasan Average
- - Lintasan Straight-line

Gambar 2. Kinematika Spermatozoa (Setiyono dkk, 2016).