



**PENGARUH PEMBERIAN HEPARIN PADA LEVEL YANG
BERBEDA PADA SEMEN BEKU SAPI LIMOUSIN HASI
SEXING YANG MENGGUNAKAN ALBUMEN
TELUR AYAM**

SKRIPSI

Oleh :

ANDI HAMDANA
I 111 01 018



PERPUSTAKAAN PUSAT UNIV. HASANUDDIN	
Tgl. Terima	29-0-2006
Asal Dari	Koleksi Perpustakaan
Jumlah	1 (SCD) PKS
Harga	-
No. Inventaris	867/29-0-2006
No. Klas.	3403

**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2006**

**PENGARUH PEMBERIAN HEPARIN PADA LEVEL YANG
BERBEDA PADA SEMEN BEKU SAPI LIMOUSIN HASIL
SEXING YANG MENGGUNAKAN ALBUMEN
TELUR AYAM**

SKRIPSI

Oleh :

ANDI HAMDANA
I 111 01 018

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

**PRODUKSI TERNAK
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2006**

Judul Skripsi : **Pengaruh Pemberian Heparin dengan level yang berbeda Pada Semen Beku Sapi Limousin Hasil Sexing yang Menggunakan Albumen Telur Ayam**

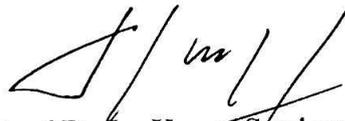
Nama : **Andi Hamdana**

Nomor Pokok : **I 111 01 018**

Skripsi Telah Diperiksa dan Disetujui Oleh :



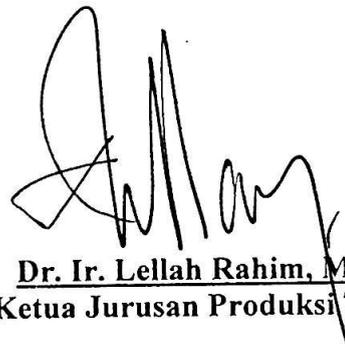
Prof. Dr. Ir. H. Abd. Latief Toleng, M.Sc
Pembimbing Utama



Prof. Dr. Ir. Herry Sonjaya, DEA,
Pembimbing Anggota



Prof. Dr. Ir. H. Basit Wello, M.Sc
Dekan Fakultas Peternakan



Dr. Ir. Lellah Rahim, M. Sc
Ketua Jurusan Produksi Ternak

Tanggal Lulus :

ABSTRACT

The aim of this research was to evaluate the spermatozoa motility for the frozen semen diluted with a medium added with various levels of heparin. The advantage of this research is to give an information about the function of heparin in the medium of frozen semen. The experimental design used were Complete Randomize Design (CRD) with factorial patterns $2 \times 3 \times 6$ to spermatozoa motil and $2 \times 3 \times 3$ to viability. The first factor was concentration of separation medium (A1 : 10% dan A2 : 30%). The second factor was level of heparin. (B1 : 0 IU/ml, 2 IU/ml dan 4 IU/ml) the third factor were the time of monitoring after thawing (Post thawing motility/PTM) (C₁ : monitoring quality of semen, C₂ : after sexing, C₃ : after additional of heparin, C₄ : PTM 0 hour, C₅ : PTM 3 and C₆ : PTM 6 hour. The result of the research showed that motility Y spermatozoa was significantly ($p < 0,01$) high than those X spermatozoa. The viability spermatozoa can be maintained with the addition of heparin compared to the control treatment. It was concluded that heparin could reduce the decreasing rate of spermatozoa viability of limousin bull semen after thawing.

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sejumlah mana tingkat motilitas spermatozoa pada semen beku yang media pengencernya ditambahkan heparin pada level yang berbeda. Kegunaan penelitian ini adalah untuk memberikan informasi mengenai fungsi dari heparin dalam bahan pengencer semen beku terhadap motilitas spermatozoa sapi Limousin. Rancangan percobaan yang diogunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola factorial ($2 \times 3 \times 6$) untuk motilitas dan pola factoril ($2 \times 3 \times 3$) persentase hidup dengan 4 kali ulangan dimana 1 factor pengukuran berulang dimana Factor A adalah medium pemisah (A_1 : 10% dan A_2 : 30%), Factor B adalah level Heparin (B_1 : 0 IU/ml, 2IU/ml dan 4 IU/ml) serta Factor ketiga waktu pengamatan setelah *Post Thawing Motility (PTM)* untuk data motilitas (C_1 : Semen segar, C_2 : setelah sexing, C_3 : setelah penambahan heparin, C_4 : PTM 0 jam, C_5 : PTM 3 jam dan C_6 : PTM 6 jam) untuk data persentase hidup (C_1 : PTM 0 jam, C_2 : PTM 3 jam dan C_3 : PTM 6 jam). Hasil yang diperoleh menunjukkan untuk motilitas spermatozoa Y nyata ($P < 0,01$) lebih tinggi dibandingkan dengan spermatozoa X. Persentasi hidup spermatozoa dapat dipertahankan dengan penambahan heparin dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Kesimpulan dari penelitian ini adalah heparin dapat mengurangi laju penurunan pada persentase hidup spermatozoa sapi Limousin setelah thawing.

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sejumlah mana tingkat motilitas spermatozoa pada semen beku yang media pengencernya ditambahkan heparin pada level yang berbeda. Kegunaan penelitian ini adalah untuk memberikan informasi mengenai fungsi dari heparin dalam bahan pengencer semen beku terhadap motilitas spermatozoa sapi Limousin. Rancangan percobaan yang diogunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola factorial ($2 \times 3 \times 6$) untuk motilitas dan pola factoril ($2 \times 3 \times 3$) persentase hidup dengan 4 kali ulangan dimana 1 factor pengukuran berulang dimana Factor A adalah medium pemisah (A_1 : 10% dan A_2 : 30%), Factor B adalah level Heparin (B_1 : 0 IU/ml, 2IU/ml dan 4 IU/ml) serta Factor ketiga waktu pengamatan setelah *Post Thawing Motility (PTM)* untuk data motilitas (C_1 : Semen segar, C_2 : setelah sexing, C_3 : setelah penambahan heparin, C_4 : PTM 0 jam, C_5 : PTM 3 jam dan C_6 : PTM 6 jam) untuk data persentase hidup (C_1 : PTM 0 jam, C_2 : PTM 3 jam dan C_3 : PTM 6 jam). Hasil yang diperoleh menunjukkan untuk motilitas spermatozoa Y nyata ($P < 0,01$) lebih tinggi dibandingkan dengan spermatozoa X. Persentasi hidup spermatozoa dapat dipertahankan dengan penambahan heparin dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Kesimpulan dari penelitian ini adalah heparin dapat mengurangi laju penurunan pada persentase hidup spermatozoa sapi Limousin setelah thawing.

RINGKASAN

ANDI HAMDANA. Pengaruh Pemberian Heparin Pada Level yang Berbeda Pada Semen Beku Sapi Limousin Hasil Sexing yang Menggunakan Albumen Telur Ayam. (dibawah Bimbingan **H. ABD LATIEF TOLENG** Sebagai Pembimbing Utama dan **HERRY SONJAYA** Sebagai Pembimbing Anggota)

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui tingkat motilitas spermatozoa pada semen beku sapi limousin hasil sexing yang media pengencernya ditambahkan heparin dengan level yang berbeda

Penelitian dilaksanakan pada bulan April sampai bulan Mei 2006, bertempat di Unit Pengembangan Ternak Daerah – Inseminasi Buatan (UPTD – IB) Jongaya Makassar dan di Laboratorium Fisiologi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin, Makassar.

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola factorial ($2 \times 3 \times 6$) untuk motilitas dan pola factoril ($2 \times 3 \times 3$) untuk persentase hidup dengan 4 kali ulangan dimana 1 factor pengukuran berulang dimana Factor A adalah medium pemisah ($A_1 : 10\%$ dan $A_2 : 30\%$), Factor B adalah level Heparin ($B_1 : 0, 2$ dan 4 IU/ml) serta Factor C adalah (Semen segar, setelah sexing, setelah penambahan heparin, serta setelah PTM 0jam, 3 jam dan 6 jam)

Prosedur penelitian diawali dengan pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis pada semen segar. Sexing dilakukan dengan menambahkan semen kedalam tabung yang berisi konsentrasi albumen telur itik 10 dan 30% kemudian dipisahkan. Proses selanjutnya disentrifuge dan tambah pengencer dan heparin pada endapan dan

dievaluasi. Dan kemas dalam *ministraw* dan equilibrasi dan disimpan dikontainer. Selanjutnya uji *Post Thawing motility (PTM)* motilitas dan persentase hidup selama 0, 3 dan 6 jam

Hasil analisis ragam menunjukkan perlakuan medium pemisah berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap motilitas spermatozoa. Sedangkan level heparin dan interaksi antara medium tidak berpengaruh ($P > 0,05$) hal ini menunjukkan medium pemisah ayam ras dapat membedakan motilitas fraksi atas (konsentrasi 10%) dengan motilitas fraksi bawah (konsentrasi 30%). Hasil analisis ragam terhadap periode pengamatan menunjukkan persentase hidup spermatozoa sangat nyata ($P < 0,05$) tetapi ada perbedaan laju penurunan antara level heparin dari 0 jam sampai 6 jam. .

Berdasarkan hasil yang diperoleh maka dapat disimpulkan : Heparin dapat mengurangi laju penurunan pada persentase hidup spermatozoa sapi limousin setelah di thawing.

KATA PENGANTAR



Assalamu Alaikum Warahmatullahi wabarakatuh

Alhamdulillah Rabbil 'Alamin, tiada kata yang paling mulia untuk diucapkan dan syukur penulis kepada Allah SWT, atas segala limpahan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini.

Penulis Menghaturkan ucapan terima kasih kepada :

1. **Bapak Prof. Dr. Ir. H. Abd. Latief Toleng, M.Sc dan Bapak Prof. Dr. Ir. Herry Sonjaya, DEA, DES** selaku pembimbing yang telah memberikan bimbingan baik moril maupun materil selama penelitian hingga penyusunan skripsi ini terselesaikan.
2. Dekan, pembantu Dekan I, II, III Fakultas Peternakan dan Ketua Jurusan Produksi Ternak serta seluruh Staf Pegawai Fakultas Peternakan dan Jurusan Produksi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin.
3. **Bapak Prof.Dr. Ir. Senong Zakaria, M.S** selaku penasehat akademik berkat arahan dan bimbingan serta nasehatnya kepada penulis dapat menyelesaikan studi.
4. **Bapak Hasbi S.Pt, kak Hastuti, S.Pt** serta **Kak Nuranti** atas bantuan dan bimbingannya selama penelitian dan penyusunan skripsi.
5. **Ayahanda Andi Danial dan ibunda A. Siti Hidayah** atas kasih sayang serta jerih payah dalam membesarkan dan mendidik ananda, atas setiap untaian doa

dan nasehatnya yang tidak pernah lepas dari setiap langkah ananda dalam mencapai cita-cita.

6. Buat kakak tercinta, **Andi Abidah ST MT, Andi Muh. Qisthim S.Sos, Andi Yuliadi, dan Andi Nusrawati SPdi** atas bantuannya dalam adinda menuntut ilmu.
7. Teman-teman Penelitian **Muh. Fauzi, Bunga intan dan Musdalifah** atas kerjasama dan dukungannya selama penyusunan skripsi, terima kasih friends
8. Rekan-rekan mahasiswa (i) Fakultas Peternakan Khususnya Jurusan Produksi Ternak Angkatan 2001 (**TANDUK 01**) kebersamaan kita merupakan anugerah dari Tuhan semoga persahabatan ini akan tetap terjaga selalu, amin.
9. Pimpinan dan staf UPTD-IB Jongaya, Makassar yang memberikan bantuan dan kemudahan kepada Penulis selama penelitian, terutama **Pak Syarief dan Ibu Hidayah** yang membantu saat penelitian.
10. Buat teman-teman di **SAR UNHAS**, terima kasih atas pengertian dan kerja samanya. Avignam Jagat Samagram. Kalian adalah pahlawan.
11. Buat **Rusli**, terima kasih atas bantuannya dan dukungan morilnya selama penyusunan skripsi ini.

Dan masih banyak pihak yang telah membantu namun tak dapat dituliskan, semoga Aliah SWT membalas kebaikan dan limpahan Rahmat-Nya. Melalui kesempatan ini penulis mengharapkan sumbangan saran dan kritik apabila di dalam penyusunan skripsi ini terdapat kekurangan dan kesalahan. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis maupun bagi para pembaca yang budiman.

Akhirul qalam, terlepas dari segala kekurangan yang ada semoga skripsi dapat memberikan manfaat dan tambahan pengetahuan dalam perkembangan ilmu pengetahuan baik bagi penulis maupun bagi para pembaca yang budiman.

Wassalamu Alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh.

Makassar, 8 Juni 2006

ANDI HAMDANA

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
RINGKASAN	iii
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
PENDAHULUAN.....	1
TINJAUAN PUSTAKA	
Karakteristik Sapi Limousin	1
Karakteristik Semen Sapi.....	3
Faktor-faktor yang Mempengaruhi Kualitas Semen Sapi.....	6
Bahan Pengencar dan Proses Pengenceran Semen	9
Sexing Spermatozoa Pembawa Kromozom X dan Kromozom Y	11
Pemisahan Spermatozoa dengan Albumen	12
Penambahan Heparin Pada Pengencer	14
Semen Beku	15
METODE PENELITIAN	
Waktu dan Tempat.....	19



Materi Penelitian	19
Metode Penelitian.....	19
Parameter yang diukur setelah perlakuan	22
Analisa Data	22
HASIL DAN PEMBAHASAN	
Karakteristik Semen Sapi Limousin	24
Motilitas Spermatozoa	26
Persentase Hidup Spermatozoa	28
KESIMPULAN DAN SARAN	34
DAFTAR PUSTAKA	35
LAMPIRAN	39

DAFTAR GAMBAR

No	<u>Teks</u>	Halaman
1.	Alur Penelitian	23
2.	Pengaruh Medium Pemisah terhadap Motilitas Spermatozoa Hasil Sexing Kromozom X dan Y	28
3.	Pengaruh Penambahan Level Heparin Terhadap Motilitas Spermatozoa Hasil Sexing Pembawa Hasil Sexing Pembawa kromozom X dan Y	28
4.	Pengaruh Penambahan Heparin Terhadap Persentase Hidup Spermatozoa Hasil Pembawa X dan Y	32

DAFTAR GAMBAR

No	<u>Teks</u>	Halaman
1.	Alur Penelitian	23
2.	Pengaruh Medium Pemisah terhadap Motilitas Spermatozoa Hasil Sexing Kromozom X dan Y	28
3.	Pengaruh Penambahan Level Heparin Terhadap Motilitas Spermatozoa Hasil Sexing Pembawa Hasil Sexing Pembawa kromozom X dan Y	28
4.	Pengaruh Penambahan Heparin Terhadap Persentase Hidup Spermatozoa Hasil Pembawa X dan Y	32

DAFTAR TABEL

No	<u>Teks</u>	Halaman
1.	Karakteristik Semen Sapi Limousin	24
2.	Rataan Persentase Hidup Spermatozoa X dan Y pada pengamatan	30

DAFTAR TABEL

No	<u>Teks</u>	Halaman
1.	Karakteristik Semen Sapi Limousin	24
2.	Rataan Persentase Hidup Spermatozoa X dan Y pada pengamatan	30

DAFTAR LAMPIRAN

No	<u>Teks</u>	Halaman
1.	kualitas Semen Segar Sapi Limousin	39
2.	Data Motilitas Semen Sapi Limousin Dengan Penambahan Heparin Dengan Level yang Berbeda.....	40
3.	Hasil Analisa Ragam Pengaruh Penambahan Heparin Pada Motilitas Semen Beku Hasil Sexing	41
4.	Rataan Motilitas Spermatozoa X dan Y Pada Periode Pengamatan	42
5.	Uji Beda Nyata Terkecil Interaksi Medium Pemisah dengan Periode Pengamatan Terhadap motilitas Spermatozoa X dan Y Hasil Sexing	42
6.	Uji Beda Nyata Terkecil Periode Pengamatan Terhadap Motilitas permatozoa X dan Y Hasil Sexing	43
7.	Data Persentase Hidup Semen Sapi Limousin Dengan Penambahan Heparin Pada Level yan Bebeda	44
8.	Hasil Analisa Ragam Pengaruh Penambahan Heparin Pada Persentase Hidup (PH) Semen Beku Hasil Sexing	45
9.	Rataan Persentase Hidup Spermatozoa X dan Y periode Pengamatan.....	46
10.	Uji Beda Nyata Terkecil Interaksi Medium Pemisah dengan Periode Pengamatan Terhadap Persentase Hidup Spermatozoa X dan Y hasil Sexing	46
11.	Uji Beda Nyata Terkecil Periode Pengamatan Terhadap Persentase Hidup Spermatozoa X dan Y Hasil Sexing	47

PENDAHULUAN

Teknologi Inseminasi Buatan merupakan salah satu cara meningkatkan daya produksi ternak melalui perbaikan mutu genetik. Keberhasilan IB sangat tergantung pada kualitas semen yang digunakan. Semen yang berkualitas diperoleh dari pejantan unggul yang sehat, tumbuh dan berkembang secara optimal.

Usaha yang dapat dilakukan untuk mendapatkan jumlah ternak sapi dengan jenis kelamin yang diinginkan adalah dengan pemisahan spermatozoa X dan Y, dimana proses pemisahan ini akan memudahkan kita dalam pemilihan jenis kelamin yang diinginkan sehingga efisiensi usaha peternakan dapat meningkat.

Pemisahan sperma dapat dilakukan berdasarkan pertimbangan adanya perbedaan sperma pembawa kromosom X dan Y berdasarkan kualitas dan kuantitas DNA yang terdapat dalam kromosom seks, perbedaan kuantitas DNA antara sperma pembawa kromosom X dan Y berdasarkan persentase DNA, dimana hewan mamalia berkisar antara 2,5% sampai 4,5%. Nukleus pada sperma mengandung protein yang beratnya sama dengan berat DNA dalam bentuk protamine yang mempengaruhi perbedaan kuantitas antara sperma pembawa kromosom X dan Y, sehingga berat kering sperma pembawa kromosom X dan Y berbeda nyata 25% (Meistrich, 1982), dengan menggunakan albumen telur ayam pemisahan antara sperma X dan Y dapat dilakukan.

Dengan penambahan heparin pada media pemisah dapat merangsang motilitas dan pergerakan dari spermatozoa sapi setelah pemisahan kromosom X dan Y, di mana heparin dapat bekerja secara sinergis mempercepat kapasitas dan reaksi akrosom (Park, Ohgoda, Niwa, 1989). Hasil penelitian yang telah dilakukan pada semen kambing yang ditambahkan heparin didapatkan, bahwa penambahan heparin mengurangi laju motilitas spermatozoa dan persentase hidup spermatozoa kambing boer hasil sexing selama penyimpanan (Nuranti, 2005).

Dari uraian diatas maka kami mencoba untuk meneliti kemungkinan dengan penambahan level heparin ke dalam media pengencer pada semen beku dapat mengurangi laju penurunan motilitas hasil pemisahan kromosom X dan Y pada semen sapi Limousin dengan menggunakan level heparin yang berbeda.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui tingkat motilitas spermatozoa pada semen beku yang media pengencernya ditambahkan heparin dengan level yang berbeda

Kegunaannya adalah untuk memberikan informasi mengenai fungsi dari heparin dalam bahan pengencer semen beku terhadap motilitas spermatozoa sapi Limousin.

TINJAUAN PUSTAKA

Karakteristik Sapi Limousin

Bangsa sapi Limousin memiliki warna mulai dari kuning sampai merah keemasan. Tanduknya berwarna cerah bobot lahirnya tergolong kecil sampai medium yang berkembang menjadi golongan besar pada saat dewasa. Betina dewasa dapat mencapai 575 kg sedangkan pejantan dewasa mencapai berat 1100 kg. Fertilitasnya cukup tinggi, mudah melahirkan mampu menyusui dan merawat anak dengan baik serta pertumbuhannya baik (Bade dan Blakely, 1994)

Sapi Limousin berasal dari Perancis, dapat beradaptasi pada kondisi yang kritis pada musim dingin, mempunyai karakter keibuan, daya hidup dan mudah dipelihara. Mempunyai badan yang besar tinggi 1,5 meter. Beratnya bervariasi 500-700 kg. bulunya cukup tebal dan kompak menutupi seluruh tubuhnya, lama pemeliharaan bisa mencapai 6-7 anak. Sampai umur 9 tahun (Anonim,2006).

Karakteristik Semen Sapi

Spermatozoa normal memiliki kepala, leher, badan dan ekor, di antara kepala dan badan terdapat sambungan pendek, yaitu leher, yang berisi centriol proksimal, kadang-kadang dinyatakan sebagai pusat ketetik aktivitas spermatozoa, bagian badan dimulai dari leher dan berlanjut ke cincin centriol. Bagian badan dan ekor mampu bergerak bebas, meskipun tanpa kepala. Ekor, serupa cambuk, membantu mendorong spermatozoa bergerak maju (Salisbury dan Van Dermark, 1985)

a. Gerakan spermatozoa

Mempunyai nilai (++) dinyatakan baik karena terlihat gelombang dan gerak gelombangnya cukup aktif dalam pengamatan mikroskopis (Partodihardjo, 1992). Gerakan massa ditetapkan suatu kriteria sebagai berikut (Anonim, 2002) :

- 0 : Tidak ada gerakan sperma maupun gerakan gelombang
- 1 : Terlihat gerakan beberapa sperma tetapi tidak ada gerakan gelombang
- 1+ : Terlihat gerak gelombang lemah (hampir tidak terlihat)
- 2 : Terlihat gerak gelombang tipis
- 2+ : Terlihat gelombang cepat seperti awan abu-abu
- 3+ : Terlihat gelombang tebal hitam abu-abu cepat sekali.

b. Gerakan Individu

Gerakan individu minimal 70%. Gerakan individu dinilai dengan angka 0 – 5 yang didasarkan persentase spermatozoa yang bergerak (Wahjuningsih, Susilawati dan Ciptadi, 1998) dengan klasifikasi sebagai berikut :

- 0 : Spermatozoa yang bergerak kurang dari 10%
- 1 : Spermatozoa yang bergerak 10 – 20 %
- 2 : Spermatozoa yang bergerak 21 – 40 %
- 3 : Spermatozoa yang bergerak 41 - 60%
- 4 : Spermatozoa yang bergerak 61 – 80%
- 5 : Spermatozoa yang bergerak 81 – 100%



c. Volume

volume semen sapi bervariasi antara 1,0 sampai 15,0 ml. volume rendah tidak merugikan, tetapi bila disertai dengan konsentrasi sperma yang rendah akan membatasi jumlah spermatozoa yang tersedia. Suatu peninggian atau penurunan volume semen yang diejakulasikan umumnya tidak berhubungan dengan fertilitas atau sterilisasi pejantan kecuali kalau tidak terjadi ejakulasi (Toelihere, 1993).

d. Warna

Semen sapi normal berwarna seperti susu atau krem keputih-putihan dan keru. Derajat kekeruhannya tergantung pada konsentrasi sperma. Kira-kira 10 persen sapi-sapi jantan menghasilkan semen yang normal berwarna kekuning-kuningan dan warna ini disebabkan oleh pigmen riboflavin yang dibawa oleh satu gen autosomal resesif dan tidak mempunyai pengaruh terhadap fertilitas (Toelihere, 1993)

e. Konsistensi

konsistensi atau derajat kekentalan pada sapi kental berwarna krem, dengan konsentrasi 300 – 2500 juta per ml. suatu konsistensi seperti susu encer memiliki konsentrasi 500 – 600 juta per ml, semen yang cair berwarna atau hanya sedikit kekeruhan konsentrasi sekitar 100 juta sel per ml dan yang jernih seperti air kurang dari 50 juta per ml (Toelihere, 1993).

f. pH

pH air mani sapi jantan segar tergantung kepada proporsi beberapa cairan yang bergabung di dalam air mani itu. Kebanyakan air mani normal yang dikumpulkan, condong ke arah asam dari pH normal dengan variasi sekitar 6,5-

6,9. Air mani yang berkualitas baik, biasanya lebih ke arah asam (pH rendah) daripada air mani dengan konsentrasi spermatozoa yang rendah. Air mani yang berkualitas jelek, mengandung cairan yang banyak jumlahnya berasal dari urethralis dan kelenjar pelengkap (Salisbury dan Van Dermark, 1985).

g. **Motilitas**

Motilitas spermatozoa dapat dipengaruhi oleh proses pengenceran semen yang dapat menyebabkan rusaknya membrane plasma dan menurunkan motilitas (Maxwell dan Watson, 1996). Kerusakan akromosom akan menurunkan metabolisme sel, dehidrasi sehingga mengakibatkan turunnya persentase hidup spermatozoa

h. **Persentasi Hidup**

Penentuan persentasi hidup sperma dapat dilakukan dengan menggunakan zat pewarna eosin, dimana sel sperma yang mati akan menghisap warna sehingga kepalanya nampak berwarna merah. Sedangkan yang tidak menghisap warna adalah sperma hidup sehingga berwarna putih (Toelihere, 1985), persentasi hidup spermatozoa harus lebih dari 50% Hafez (1993)

Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Kualitas Semen Sapi

a. **Lingkungan**

Faktor lingkungan dapat mempengaruhi kinerja reproduksi pada ternak. Pada kondisi mencekam panas kinerja reproduksi cenderung tertekan yang mengakibatkan fertilitas rendah, dewasa kelamin yang lambat, interval beranak lama (Devendra dan Burns, 1994). Chemineau, Cognie, Guerin, Orocoraad dan vallet (1991) bahwa tingginya temperatur lingkungan dapat menurunkan kualitas

6,9. Air mani yang berkualitas baik, biasanya lebih ke arah asam (pH rendah) daripada air mani dengan konsentrasi spermatozoa yang rendah. Air mani yang berkualitas jelek, mengandung cairan yang banyak jumlahnya berasal dari urethralis dan kelenjar pelengkap (Salisbury dan Van Dermark, 1985).

g. **Motilitas**

Motilitas spermatozoa dapat dipengaruhi oleh proses pengenceran semen yang dapat menyebabkan rusaknya membrane plasma dan menurunkan motilitas (Maxwell dan Watson, 1996). Kerusakan akromosom akan menurunkan metabolisme sel, dehidrasi sehingga mengakibatkan turunnya persentase hidup spermatozoa

h. **Persentasi Hidup**

Penentuan persentasi hidup sperma dapat dilakukan dengan menggunakan zat pewarna eosin, dimana sel sperma yang mati akan menghisap warna sehingga kepalanya nampak berwarna merah. Sedangkan yang tidak menghisap warna adalah sperma hidup sehingga berwarna putih (Toelihere, 1985), persentasi hidup spermatozoa harus lebih dari 50% Hafez (1993)

Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Kualitas Semen Sapi

a. **Lingkungan**

Faktor lingkungan dapat mempengaruhi kinerja reproduksi pada ternak. Pada kondisi mencekam panas kinerja reproduksi cenderung tertekan yang mengakibatkan fertilitas rendah, dewasa kelamin yang lambat, interval beranak lama (Devendra dan Burns, 1994). Chemineau, Cognie, Guerin, Orocoraad dan vallet (1991) bahwa tingginya temperatur lingkungan dapat menurunkan kualitas

semen sehingga menurunkan motilitas, persentase hidup spermatozoa dan terjadi penambahan persentase spermatozoa yang abnormal.

Adanya keragaman dalam sifat semen juga dapat disebabkan pengaruh musim. Volume ejakulat, motilitas, konsentrasi dan proporsi spermatozoa hidup secara nyata dipengaruhi oleh musim. Tingginya temperatur dan kelembaban lingkungan di beberapa bagian daerah tropis berpengaruh pada kualitas air mani (Chemineau, et al., 1991).

b. Makanan/Nutrisi

Makanan merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi kinerja reproduksi ternak baik jantan maupun betina. Kurangnya nilai gizi makanan seperti vitamin A dan mineral sangat mempengaruhi aktivitas seksual. Kurangnya makanan pada ternak jantan dapat terjadi pengurangan berat testes, konsentrasi dan jumlah spermatozoa yang diejakulasikan (Chemineau, et al., 1991).

Chemineau, et al., (1991) bahwa secara nyata terdapat hubungan antara berat testes dan berat hidup, tetapi juga antara berat testes dan skor kondisi tubuh. Karena itu, nyatanya hubungan juga terdapat antara hari pengeluaran sperma, berat hidup, dan skor kondisi tubuh. Bagaimanapun, jika sangat kekurangan makanan dapat berpengaruh terhadap kuantitas produksi sel sperma dan hal itu tidak dilihat untuk memodifikasi kualitas semen yang diejakulasi.

c. Penyakit

Terjadinya infeksi penyakit pada pejantan-pejantan sangat berpengaruh terhadap produksi sperma. Adanya infeksi penyakit menyebabkan suhu tubuh ternak meningkat ($37^{\circ} - 39^{\circ}\text{C}$). Peningkatan suhu tubuh akan memperlihatkan

spermatozoa yang abnormal setelah dilakukan penampungan semen beberapa minggu setelah terjadi infeksi (Chemineau, et al., 1991).

d. Penampungan Semen.

Salah satu faktor yang mempengaruhi kualitas sperma adalah penampungan. Pejantan yang akan ditampung semennya harus dibersihkan dari kotoran-kotoran untuk menjaga kebersihan air mani, cukup rangsangan seksual sebelum pejantan ditampung, menjaga kelestarian hawa nafsu kawin, menjaga suasana lingkungan serta menghindari tindakan-tindakan kasar dan rambut panjang pada preputium harus dipotong (Salisbury and Van Dermark, 1985).

Sewaktu pemasangan vagina buatan, selongsong dalam (*inner Liner*) dimasukkan kesilinder tebal dengan ujungnya dikuakkan keluar menutupi ujung luar silinder. Sebuah corong karet dipasang pada satu ujung silinder (model Denmark) dan tabung spermatozoa ditautkan pada ujung corong karet tersebut. Apabila gelang-gelang karet dipakai untuk mengikat bagian-bagian vagina buatan ini, harus diperhatikan agar gelang-gelang karet tersebut tidak bergeser terlepas dari vagina buatan dan mengikat penis sewaktu penampungan semen (Toelihere, 1993).

Pada waktu semen ditampung dengan menggunakan vagina buatan, bahan pelicin yang digunakan tidak boleh lengket karena hal ini akan mengakibatkan penis akan terasa sakit dan proses ejakulasi dapat terganggu, sebaliknya bahan pelicin yang terlalu encer dapat dengan mudah mengalir kedalam tabung sperma dan rusak atau membunuh sperma (Toelihere dan Yusuf, 1985).

Bahan Pengencer dan Proses Pengenceran Semen

Fungsi pengencer adalah untuk memperbanyak volume semen, melindungi spermatozoa dari *Cold shock* (cekaman dingin) selama pembekuan, menyediakan zat makanan, menyediakan buffer sebagai penetralisasi asam laktat yang diproduksi oleh aktifitas metabolisme spermatozoa dan mencegah kemungkinan pertumbuhan kuman. Pengencer harus isotonis dengan spermatozoa (Bearden dan Fuquay, 1984; Toelihere 1993).

Semen yang telah diencerkan dalam glass direndam dengan air yang mempunyai suhu sama dengan suhu 5⁰C. perendaman semen di air didalam beaker glass untuk mencegah *Cold Shock* (Bearden dan Fuquay, 1984; Evans dan Maxwell, 1990; Hafez, 1993). Spermatozoa pada semen spesies mudah terpengaruh *Cold Shock* jika didinginkan secara cepat dan bisa ditujukan dengan hilangnya motilitas spermatozoa (Bearden dan Fuquay, 1984).

Syarat-syarat pengencer adalah murah, mudah dan praktis dibuat, tidak boleh mengandung zat toksik baik terhadap spermatozoa maupun saluran reproduksi betina, mengandung unsur-unsur hampir sama dengan sifat fisik dan kimiawi spermatozoa, memberi kemungkinan penilaian sperma sesudah pengenceran dan tidak boleh membatasi daya fertiltas spermatozoa (BIB Lembang, 1992).

Motilitas atau pergerakan spermatozoa merupakan salah satu penentu kualitas spermatozoa. Motilitas spermatozoa dapat dipengaruhi oleh proses pengenceran semen yang dapat dipengaruhi oleh proses pengenceran semen yang dapat menyebabkan rusaknya membran plasma dan menurunkan motilitas

(Maxwell dan Watson, 1996), kerusakan akrosom akan menurunkan metabolisme sel, dehidrasi sehingga mengakibatkan turunnya persentase hidup spermatozoa.

Faktor lain yang dapat mempengaruhi motilitas spermatozoa adalah sifat dari bahan pengencer. Bearden dan Fuquay (1984) menyatakan bahwa aktifitas metabolik semen menjadi maksimum ketika diencerkan dengan pengencer yang isotonik, akan tetapi bila pengencer bersifat hipotonik atau hipertonic akan menurunkan kecepatan metabolisme tetapi tidak akan meningkatkan persentase hidup spermatozoa. Motilitas dan daya hidup spermatozoa menjadi sangat panjang bila menggunakan pengencer yang isotonik.

Susilawati, Sumitro, Soehartojo, Mantra, dan Nuryadi, (1999) bahwa penurunan motilitas selama waktu inkubasi (0 – 5 jam) disebabkan oleh waktu yang semakin lama, sehingga walaupun spermatozoa sudah ditambah dengan bahan pengencer, tetapi lama-kelamaan fungsi optimal bahan pengencer menurun dan daya gerak spermatozoa juga menurun. Suhu inkubasi akan menunjang proses metabolisme, sehingga berjalan dengan cepat dan persediaan energi semakin lama akan semakin berkurang yang mengakibatkan motilitas spermatozoa semakin lama semakin menurun. Selain itu dengan adanya proses metabolisme pada kondisi anaerob (*fructolysis*) secara terus menerus akan menyebabkan penimbunan asam laktat selanjutnya kondisi ini akan menurunkan PH dan sebagai akibatnya maka motilitas spermatozoa akan menurun (Bearden dan Fuquay, 1984)

Yanagimachi (1989) bahwa kelangsungan hidup spermatozoa dari banyak mamalia dapat bertahan dari kapasitas dalam media buatan yang mirip Krebs-

Ringer's yang mengandung kation (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}), anion (Cl^- , HCO_3^- , PO_4^{3-} , SO_4^{2-}), substrak energi (Laktat Piruvat, glukosa) dan Lainnya (albumen).

Antibiotik perlu ditambahkan dalam pengencer untuk mencegah pertumbuhan mikroorganisme (Evans dan Maxwell, 1990). Penambahan antibiotik ke dalam bahan pengencer semen berguna untuk memperpanjang kehidupan dan mempertahankan daya guna sperma, untuk pengawetan semen, serta daya hidup sperma dan memperbaiki fertilitas (Erb, Mikota, Flercinger and Fehler, 1985)

Sexing Spermatozoa Pembawa Kromosom X dan Kromosom Y

Pejantan pada mamalia menentukan terjadinya generasi berjenis kelamin betina atau jantan yang dilahirkan (Toelihere, 1993). Jenis kelamin anak yang dilahirkan ditentukan oleh sel spermatozoa pembawa kromozom X dan Y. Jika spermatozoa membawa kromozom X maka akan berjenis kelamin betina dan kromozom Y berjenis kelamin jantan

Sexing adalah suatu cara pemisahan kromosom X dan Y, dapat dilakukan dengan cara dan bahan yang bermacam-macam (Isnaini, 1994). Mahaputra, Wurlida, Sulistyati dan Mulyati (1989) telah memisahkan spermatozoa domba dengan menggunakan Sepandhex Column G-200 dengan hasil penelitian yang menunjukkan bahwa 87% spermatozoa X didapatkan pada filtrat.

Pemisahan sperma dapat dilakukan berdasarkan pertimbangan adanya perbedaan sperma pembawa kromozom X dan Y berdasarkan kualitas dan kuantitas DNA yang terdapat dalam kromozom seks. Perbedaan kuantitas DNA antara sperma pembawa kromozom X dan Y berdasarkam persentase DNA,

dimana hewan mamalia berkisar 2,5% sampai 4,5%. Nukleus pada sperma mengandung protein yang beratnya sama dengan berat DNA dalam bentuk protamine yang mempengaruhi perbedaan kuantitas antara sperma pembawa kromosom X dan Y, sehingga berat kering sperma pembawa kromosom X dan Y berbeda nyata 15% (Meistrich, 1982). Spermatozoa X dan Y dapat diidentifikasi dengan flourenscent body dan motilitasnya lebih cepat, sedangkan spermatozoa X lebih tahan hidup dengan bergerak ke arah anoda (Hafez, 1993).

Menurut Hafez (1993) bahwa spermatozoa X mengandung kromatin lebih banyak pada kepalanya, sehingga mengakibatkan ukuran kepala spermatozoa lebih besar sedangkan spermatozoa Y biasanya ukuran kepalanya lebih kecil, lebih ringan dan lebih pendek dibandingkan dengan spermatozoa X, sehingga spermatozoa Y lebih cepat dan lebih banyak bergerak serta kemungkinan mengandung materi genetik dan DNA lebih sedikit dibandingkan spermatozoa X.

Pemisahan Spermatozoa dengan Albumen

Putih telur yang sering disebut merupakan bagian dari telur yang berfungsi sebagai anti bakteri dan buffer untuk mempertahankan sifat fisik dan kimia telur putih telur terdiri dari 3 lapisan material yaitu "*inner thin albumen*" berbentuk cairan agak kental yang terletak dari bagian dari telur "*thick albumen*" tengah dan bersifat kental, serta lapisan "*outher thin albumen*" lapisan paling luar (McWilliams, 1997).

Putih telur terdiri dari dari bermacam-macam protein, enzim inhibitor, anti bakteri, vitamin dan mineral. Protein merupakan bagian terbanyak bahan organik yang menyusun putih telur yang terdiri atas ovoalbumen, ovontransfeerin,

ovomucin, *lysozyme*, avadin, globulin. Sebagai komponen utamanya (Hazelwood, 1983 dan McWilliams, 1997).

Pemisahan dengan menggunakan albumen merupakan metode yang cukup fleksibel dan mudah diterapkan dilapangan. Metode ini didasarkan atas perbedaan motilitas spermatozoa X dan Y sebagai implikasi dari perbedaan massa dan ukuran. Massa dan ukuran spermatozoa Y yang lebih kecil dari spermatozoa X menyebabkan spermatozoa tersebut mampu bergerak lebih cepat atau mempunyai daya penetrasi yang lebih tinggi untuk memasuki suatu larutan (Jaswadi, 1996).

Martin *et al* (1983) disitir oleh Pancahastana (1999) bahwa dalam albumen terdapat zat yang disebut *lysozyme* yang merupakan senyawa protein yang mengandung antibiotika yang dapat menghancurkan beberapa bakteri yang dapat membunuh spermatozoa yang telah dipisahkan.

Susilawati (2003) bahwa pada medium pemisah 30% kandungan agen bakteri *avidin* dan *lysozyme* yang terdapat dalam putih telur lebih banyak sehingga motilitas dan persentase hidup spermatozoa Y lebih tinggi dibanding spermatozoa X.

Metode pemisahan dengan menggunakan kolom albumin didasarkan pada perbedaan motilitas spermatozoa X dan Y. Prinsip dari metode ini adalah membuat medium yang berbeda konsentrasinya, sehingga spermatozoa yang mempunyai motilitas tinggi (Y) akan mampu menembus konsentrasi medium yang lebih pekat. Sedangkan spermatozoa X akan tetap berada pada medium yang mempunyai konsentrasi rendah (Susilawati dkk, 2002).

Pemisahan spermatozoa dengan metode kolom albumin yang menggunakan bahan Bovine Serum Albumin (BSA) dan ovalbumin dalam konsentrasi yang berbeda dapat dilakukan dengan bahan medium yang sederhana dan terjangkau berupa putih telur, mengingat kandungan ovalbumin dalam putih telur 54% (Saili, 1999).

Albumen (putih telur) dapat dijadikan bahan pengganti medium Bovine Serum Albumen (BSA). Penggunaan albumen sebagai pengganti BSA untuk pemisahan spermatozoa sapi dengan konsentrasi 10% (v/v) pada lapisan atas dan 30% (v/v) pada lapisan bawah dengan lama waktu ekuilibrisasi selama satu jam cukup efektif (Saili, 1999).

Penambahan Heparin pada Pengencer

Heparin merupakan mukopolisakarida asam terdiri dari asam D-glukoronat dan D-glukosamino, terdapat pada banyak jaringan, khususnya hati dan paru, dan memiliki daya anti koagulan yang kuat (Dorland, 1996).

Heparin 1 – 5 IU/ml yang ditambahkan pada semen sapi dan kambing yang dicairkan dengan lama inkubasi 30 menit dapat menstimulasi spermatozoa. Selama inkubasi spermatozoa ditambahkan heparin sebanyak 10 IU/ml selama 4 jam dapat meningkatkan persentase induksi spermatozoa untuk menjalani reaksi akrosom yaitu 0% menjadi 70%. Tingkat fertilitas meningkat dengan meningkatkan konsentrasi heparin dari 0 IU/ml menjadi 5 IU/ml dalam waktu optimal sekitar 15 menit (Pereira, dkk., 2000).

Mekanisme fungsi heparin sebagai pengencer untuk reseptor dalam membran plasma sperma. Heparin yang terikat pada spermatozoa, muncul untuk

merangsang tingginya kalsium antar sel, pH dan cAMP dan pembersihan protein plasma mani dan membran plasma yang dianggap dapat menghambat kapasitas (Cormier dan Balley, 2003). Hal ini didukung oleh Yanagimachi (1989) bahwa, kapasitas secara khusus merupakan suatu perubahan yang membuat spermatozoa mampu mengalami reaksi akrosom, di mana pengaturan biokimia membran plasma spermatozoa dapat diaktivasi dengan heparin.

Penambahan heparin mengurangi laju penurunan motilitas dan persentasi hidup spermatozoa kambing Boer hasil sexing pada semen cair selama penyimpanan, hasil penelitian (Nuranty, 2005).

Semen Beku.

Untuk menyimpan semen diatas suhu 5⁰C dan menginginkan hasil yang tetap menguntungkan metode alternatif yang bisa digunakan ialah dengan cara menghambat metabolisme melalui pemberian CO₂, menurunkan pH dan pemberian N₂ cair (Vishwanath dan Shannon,2000).

Standar sperma sapi yang layak digunakan untuk keperluan IB sebelum disimpan di dalam *straw*, harus memiliki konsentrasi 700 juta *spermatozoa*. Jika konsentrasi berada di bawah angka tersebut biasanya dibuang, karena diyakini secara ilmiah tidak dapat membuahi (Nur ,2006).

Setelah sperma sapi dimasukkan ke dalam *straw*, konsentrasinya menjadi 25 juta spermatozoa (1 *straw* berisi 0,25 ml). Standar warna *straw* setiap jenis sapi sudah ditentukan secara internasional. Putih untuk sapi Simmental dan merah untuk sapi Limousin. Selanjutnya sperma dalam *straw* dibekukan di tabung N₂ cair ber suhu minus 196 derajat Celsius. Selama berada di dalamnya, sperma

tersebut akan awet selama bertahun-tahun, hingga 10 tahun (Nur, 2004). Spermatozoa yang disimpan pada suhu -79°C (kering beku) atau pada suhu -196°C (Nitrogen cair) memiliki potensi fertilitas yang tinggi, serta glyserol sebagai agen cryrotektan pada semen beku (Vishwanath dan Shannon, 2000).

Keuntungan semen beku adalah sebagai berikut (Toelihere 1993) :

1. Semen pejantan-pejantan yang unggul, baik yang masih sehat maupun yang terluka, cacat, pinjang atau tua, dapat dipakai secara efisien sepanjang tahun.
2. Keuntungan unik dari semen beku adalah dapat mengatasi hambatan-hambatan waktu dan jarak
3. Semen beku memungkinkan perkawinan selektif dengan pejantan-pejantan unggul untuk daerah yang luas.
4. Biaya pengangkutan semen dari pusat inseminasi buatan ke pelaksana inseminasi didaerah atau dilapangan dan dipelosok-pelosok sangat dikurangi karena penyediaan semen dan nitrogen cair hanya dilakukan sekali sebulan, tidak dua kali seminggu seperti dengan semen cair.
5. Produksi spermatozoa, prosentasi sperma yang morfologik normal dan prosentase sperma motil sesudah pembekuan adalah lebih muda pada sapi-sapi jantan yang berumur 6 sampai 12 tahun dibandingkan dengan yang berumur 3 sampai 6 tahun

Kerugian semen beku adalah sebagai berikut (Toelihere, 1993)

1. Beberapa sapi jantan, kira-kira 10 sampai 20 prosen, menghasilkan semen yang tidak tahan terhadap pembekuan.

2. Semen beku adalah mahal.
3. Dalam proses pembekuan, antara 20 sampai 80 prosen, rata-rata 50 prosen, spermatozoa akan mati sehingga jumlah sel-sel kelamin jantan tersebut perlu dipertinggi untu setiap dosis IB
4. Jika kesehatan pejantan tidak dipertahankan, semen beku mempunyai potensi tinggi untuk menyebarkan penyakit-penyakit viral dan bakterial.
5. Pemakaian semen beku secara besar-besaran akan membatasi jumlah pejantan yang dipakai dan mungkin mempersempit dasar genetik sesuatu bangsa ternak tertentu.

Kandungan yang terdapat pada pengecer yaitu *Xiloxe, fruktose, glukosa, galaktose, maltose, sukrose, dan ravinosa* efektif digunakan pada proses pembekuan cepat dari semen. Gula menunjukkan beberapa fungsi sebagai pelarut, sebagai penambah tekanan osmotik medium dan berfungsi sebagai Cryoproteptan. Polioliol seperti gliserol dan beberapa gula membentuk ikatan hidrogen dan bersifat polar yang terdiri atas lapisan lipid. Pengaruh utama dari gula dan polioliol adalah kemampuannya menggantikan polar dan sifat ini akan membantu menstabilkan membran selama proses transisi melalui zona suhu kritis. Gula seperti gliserol akan meningkatkan sifat mekanis dari pelarut dengan meningkatkan viskositasnya. Hal ini mencegah terjadinya kristalisasi bahan pelarut dan meningkatkan tendensi pembentukan kristal pada medium, suatu sifat yang dapat digunakan untuk meningkatkan vitrivikasi media (Vishwanath dan Shannon 2000).

Langkah-langkah pembekuan mempunyai sejumlah kemungkinan untuk memberikan kerusakan pada semen yaitu pertama perubahan suhu, kedua tekanan osmotik, racun yang disebabkan oleh konsentrasi *cryoprotectant*, ketiga formasi dan pelarutan es di dalam lingkungan estraseluler (Watson, 2000) stres yang ditimbulkan oleh pembentukan kristal es berhubungan erat dengan adanya perubahan osmotik pada bagian yang tidak membeku.

Thawing secara tepat dapat mencegah kerusakan pada sperma selama pencairan kembali, mencegah terjadinya rekristalisasi dari molekul air yang akan merusak membran sel (Vishwanath dan Shanon, 2000) *thawing* yang lambat yaitu perubahan osmotik dapat menyebabkan masuknya air ke dalam sel selama proses *thawing*.

METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian mengenai pengaruh pemberian heparin pada level yang berbeda pada semen beku sapi limousin hasil sexing yang menggunakan albumen telur ayam, dilaksanakan pada bulan April sampai Mei 2006, bertempat di Unit Pengembangan Ternak Daerah – Inseminasi Buatan (UPTD – IB) Jongzaya Makassar dan di Laboratorium Fisiologi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin, Makassar.

Materi Penelitian

Peralatan yang digunakan pada pelaksanaan penelitian ini adalah seperangkat alat vagina buatan, tabung reaksi, gelas ukur, pipet volume, centrifuge, termometer, lensa mikrometer, bunsene, labu erlenmeyer, spoit, saringan, kapas, kertas label, objek glass dan deck glass.

Bahan yang digunakan pada pelaksanaan penelitian ini adalah semen sapi Limousin yang ditampung dengan menggunakan metode vagina buatan (VB), albumen telur ayam ras sebagai media pemisah, alkohol, eosin, NaCl 0,9 %, larutan pengencer andromed (*aquabides, fruktosa, gliserol, adicum citricum, buffer, posfolipid, spektimocint 30 mg, lincomisin 15 mg dan gentamicin 25 mg*) dan heparin dengan volume 0,2 dan 4 Iu/ml.

Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial (2 x 3 x 6) untuk motilitas dan

pola faktorial ($2 \times 3 \times 3$) persentase hidup dengan 4 kali ulangan dimana 1 faktor pengukuran berulang dimana

Faktor A adalah medium pemisah (A_1 : 10% dan A_2 : 30%),

Faktor B adalah level Heparin (B_1 : 0 IU/ml, 2IU/ml dan 4 IU/ml) serta

Faktor C adalah (pengamatan semen segar, setelah sexing, setelah penambahan heparin, serta setelah PTM 0 jam , 3 jam dan 6 jam)

Pelaksanaan penelitian terdiri dari beberapa tahapan sebagai berikut :

a. Pembuatan Media Pemisah

Untuk media pemisah dengan konsentrasi 30%, albumen telur sebanyak 30 ml dimasukkan kedalam 70 ml NaCl 0,9 dan media pemisah dengan konsentrasi 10% albumen sebanyak 10 ml dimasukkan kedalam 90 ml NaCl 0,9% kemudian dihomogenkan selama 20 menit. Setelah media pemisah tersedia kemudian disimpan pada temperatur 5°C

b. Penampungan semen

Tahap ini diawali dengan penampungan semen dengan menggunakan vagina buatan. Setelah semen tertampung, segera dilakukan penilaian secara makroskopis (Warna, PH, volume dan Konsistensi) dan mikroskopis (gerakan massa, gerakan individu, persentase motilitas dan konsentrasi sperma)

c. Pengenceran Semen

Semen sapi Limousin yang telah dievaluasi kemudian diencerkan dengan pengencer dengan perbandingan 1 cc semen : 1 pengencer.

d. Pemisahan Spermatozoa pembawa kromozom X dan Y

Berdasarkan media pemisah setiap fraksi semen disedot dengan menggunakan pipet dan ditampung dalam tabung reaksi masing-masing 1 ml dan dibiarkan selama \pm 30 menit. Berdasarkan media pemisah setiap fraksi semen disedot dengan menggunakan pipet dan ditampung dalam tabung reaksi kemudian semen disentrifuge selama 20 menit dengan kecepatan 2500 rpm. Kemudian sampel ditambahkan larutan pengencer masing-masing untuk mendapatkan endapan spermatozoa yang bersih dari medium pemisah. Setelah itu sampel disimpan dalam lemari pendingin selama 20 menit, kemudian ditambahkan level heparin (0, 2 dan 4 IU/ml).

e. Pengemasan Semen dan Ekuilibrasi

Pengemasan ke dalam mini straw, dilakukan dilakukan di dalam ruangan dingin setelah itu dilakukan ekuilibrasi yaitu proses penyesuaian spermatozoa terhadap glycerol agar sewaktu pembekuan kematian sperma yang berlebihan dapat dicegah. Kemudian dimasukkan kedalam uap N₂ cair selama 2 menit.

f. Thawing dan Pemeriksaan kualitas semen beku

Semen yang telah dibekukan selama dua hari kemudian di angkat dari nitrogen cair dan dimasukkan ke dalam air hangat (30⁰ C) selama 15 – 30 detik. Straw digunakan pada bagian tengah untuk mengeluarkan semen kemudian dilakukan pemeriksaan mikroskopis.



Parameter yang diukur setelah perlakuan

1. Persentase motilitas yaitu Semen segar, setelah sexing, penambahan heparin serta setelah 0, 3 dan 6 jam
2. Persentasi hidup setelah 0, 3 dan 6 jam

Analisis Data

Data yang diperoleh ini akan dianalisa berdasarkan analisis ragam, dengan paket SPSS 10,0 For Windows

Model matematika rancangan percobaan yang digunakan adalah :

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + \eta_{ijl} + C_k + (AC)_{ik} + (BC)_{jk} + (ABC)_{ijk} + \varepsilon_{ijkl}$$

i = 1, 2 (Medium pemisah)

j = 1, 2, 3, (Level heparin dengan perlakuan kontrol, 2 IU/ml, 4 IU/ml)

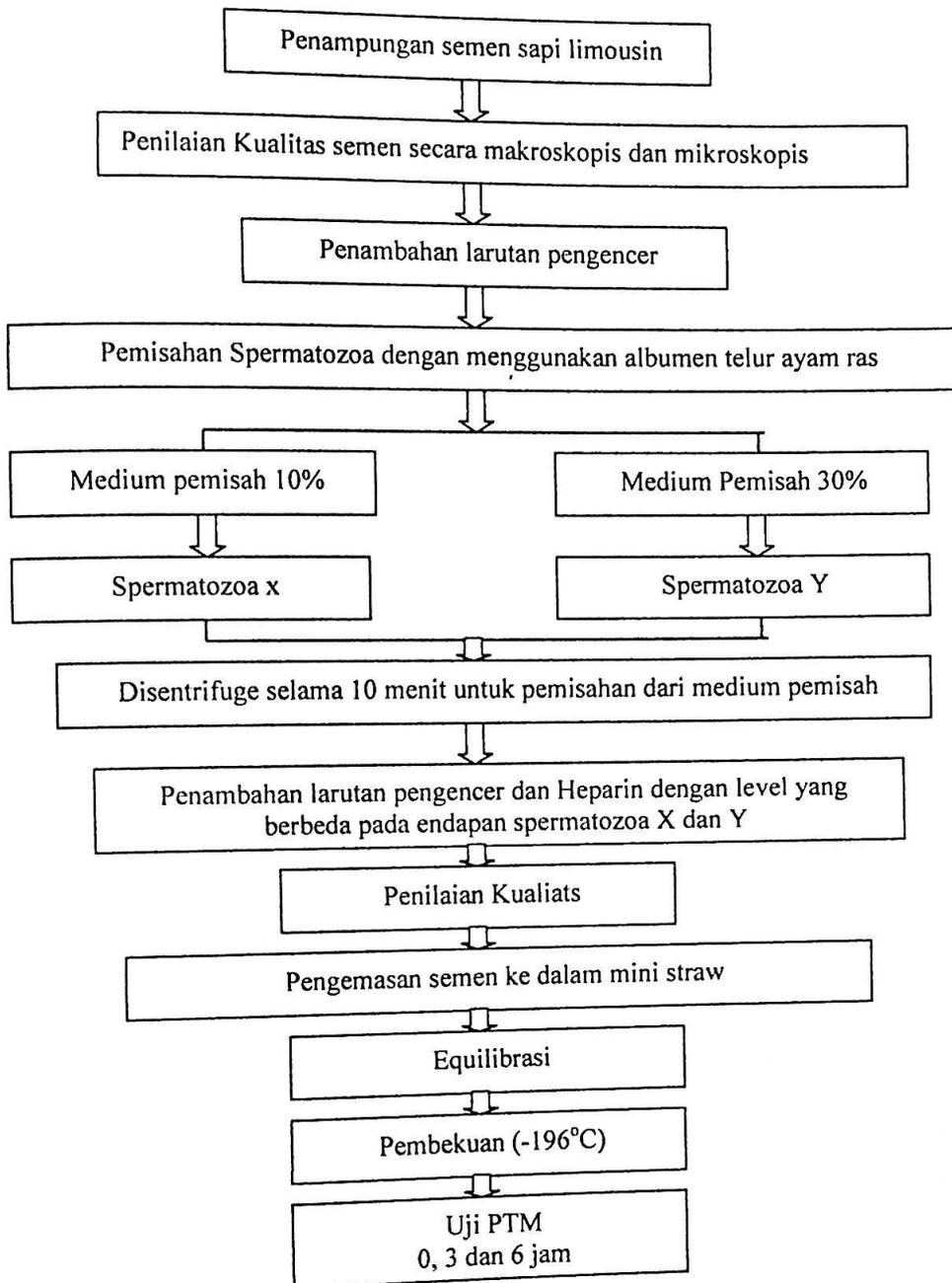
k = 1, 2, 3, 4, 5, 6 (pengamatan semen segar, medium pemisah, penambahan heparin, setelah PTM 0jam, 3 jam dan 6 jam) untuk motilitas dan 1, 2, 3 (setelah PTM 0 jam, 3 jam dan 6 jam) untuk Persentasi Hidup

l = 1, 2, 3, 4 (Ulangan)

Keterangan:

- Y_{ijkl} = Kualitas Spermatozoa hasil pemisahan pada petak percobaan ke-l yang diperoleh kombinasi perlakuan ijk (taraf ke i dari faktor perlakuan konsentrasi media pemisah 10% dan 30% dan taraf ke-i dari faktor tingkat penambahan heparin.
- μ = Nilai rata-rata umum kualitas spermatozoa
- A_i = Pengaruh konsentrasi media pemisah 10% dan 30% ke-i
- B_j = Pengaruh perlakuan penambahan heparin pada konsentrasi ke-j
- $(AB)_{ij}$ = Pengaruh interaksi taraf ke-i faktor A dan taraf ke-j faktor B
- η_{ijl} = Pengaruh galat percobaan pada kelompok ke-l yang memperoleh taraf ke-i faktor A, taraf ke-j faktor B
- C_k = Pengaruh aditif dari taraf ke-k faktor C
- $(AC)_{ik}$ = Pengaruh interaksi taraf ke-i faktor A dan taraf ke-k faktor C
- $(BC)_{jk}$ = Pengaruh interaksi taraf ke-j faktor B dan taraf ke-k faktor C
- $(ABC)_{ijk}$ = Pengaruh interaksi taraf ke-i faktor A, taraf ke-j faktor B dan taraf ke-k faktor C
- ε_{ijkl} = Pengaruh galat percobaan pada kelompok ke-l yang memperoleh taraf ke-i faktor A, taraf ke-j faktor B dan taraf ke-k faktor C

Prosedur penelitian yang akan dilaksanakan dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Alur Penelitian

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Karakteristik Semen Beku Sapi Limousin.

Karakteristik semen sapi Limousin yang digunakan pada penelitian tertera pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Semen Segar Sapi Limousin yang Digunakan pada penelitian

Parameter	Nilai
A. Makroskopis Warna Kosistensi PH Volume	Putih susu Sedang 5,7 4.375
B. Mikroskopis Gerakan Massa Motilitas Individu Kosentrasi (Juta/ml)	(++) sampai (+++) 70% 758,25

Pada penelitian yang telah dilakukan, semen segar sebelum diproses sesuai dengan perlakuan terlebih dahulu dilakukan pemeriksaan secara makroskopis dan mikroskopis. Penilaian secara makroskopis meliputi pemeriksaan warna, kosistensi, pH, dan volume, sedangkan pemeriksaan secara mikroskopis meliputi pemeriksaan gerakan massa, dan konsentrasi. Hal ini sesuai dengan pendapat Toelihere (1993) bahwa penilaian semen dilakukan setelah penampungan, baik secara makroskopis maupun mikroskopis.

Semen segar sapi Limousin pada penelitian yang telah dilakukan berwarna putih susu, hal ini sesuai dengan pendapat Partodihardjo (1992) bahwa warna semen segar yang baik adalah warna krem atau warna putih susu,

sedangkan bila semen segar berwarna hijau kekuning-kuningan artinya semen mengandung kuman *Pseudomonas auriginosa*, semen yang berwarna merah berarti mengandung darah dan bila berwarna coklat berarti semen tersebut mengandung nanah, serta apabila di dalam penampungan vagina buatan yang digunakan kurang bagus sehingga vaselin serta air hangat yang ada di vagina buatan masuk ke dalam semen segar. Sehingga apabila terjadi hal seperti ini maka akan mengurangi kualitas dari semen yang akan di bekukan dan persentasi motilitas akan berkurang.

Kosistensi semen segar sapi limousin yang digunakan disini adalah kosistensinya sedang, hal ini menunjukkan semen yang digunakan masih tergolong bagus karena memiliki kosistensi 500 – 600 juta per ml. Menurut pendapat Toelihere (1993) kosistensi atau derajat kekentalan pada sapi kental berwarna krem, dengan kosentrasi 300 – 2500 juta per ml. Suatu kosistensi seperti susu encer memiliki kosentrasi 500 – 600 juta per ml, semen cair yang berawan atau hanya sedikit kekeruhan kosentrasi sekitar 100 juta sel per ml dan yang jernih seperti air kurang dari 50 juta per ml.

pH sapi limousin yang digunakan adalah didapatkan rata-rata 5,7. dari hasil yang didapatkan ini membuktikan bahwa pH condong ke arah basa, hal ini mungkin disebabkan semen yang digunakan banyak mengandung cairan yang banyak berasal dari urethralis dan kelenjar pelengkap hal ini sesuai dengan pendapat Salisbury dan Vandermark,(1985) bahwa kebanyakan air mani normal yang dikumpulkan, condong ke arah asam dari pH yang normal dengan variasi sekitar 6,5 – 6,9.

Toelihere (1993) mengemukakan bahwa volume semen yang diejakulasikan oleh pejantan dapat berbeda-beda menurut umur pejantan, rasa, besar dan beratnya hewan, frekuensi penampungan serta beberapa faktor lainnya. Pada penelitian ini rata-rata volume ejakulat didapatkan adalah 4,375 cc hal ini sesuai dengan Toelihere (1993) bahwa volume semen sapi bervariasi antara 1,0 sampai 15,0 ml. Volume rendah tidak merugikan, tetapi bila disertai dengan konsentrasi yang sperma yang rendah akan membatasi jumlah spermatozoa yang tersedia.

Gerakan massa semen yang didapatkan rata-rata yang didapatkan adalah (++) dinyatakan baik hal ini sesuai dengan pendapat Partodihardjo (1992) bahwa nilai (++) dinyatakan baik karena terlihat gelombananya cukup aktif dalam pengamatan mikroskopis.

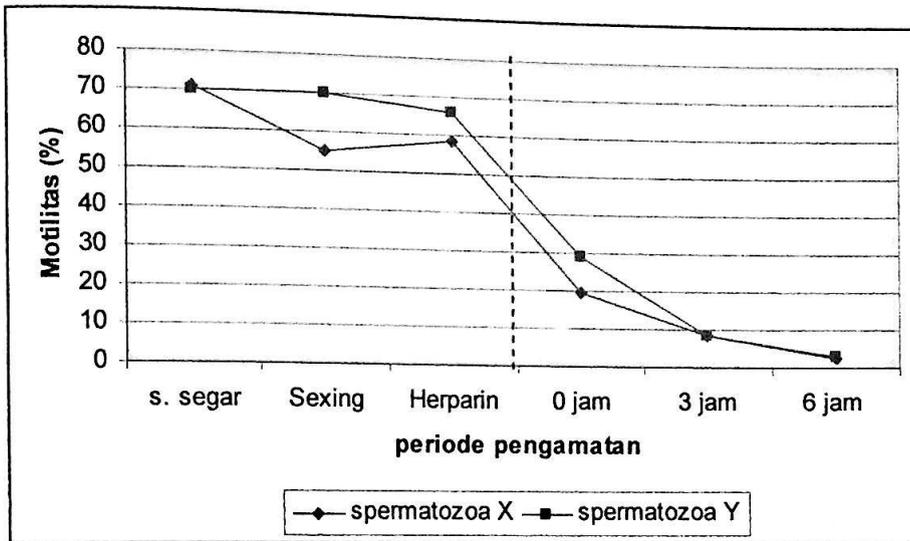
Persentasi hidup semen segar penelitian pada tiga kali penampungan yang diperoleh adalah 70%. Hasil ini tergolong cukup baik karena menurut Hafez (1993) bahwa persentasi hidup spermatozoa harus lebih dari 50%.

Kosentasi semen sapi Limousin yang didapatkan selama penampungan adalah 857,25, hasil ini cukup normal, hal ini sesuai dengan Toelihere (1993) bahwa kosistensi atau derajat kekentalan pada sapi kental berwarna krem, dengan konsentrasi 300 – 2500 juta per ml.

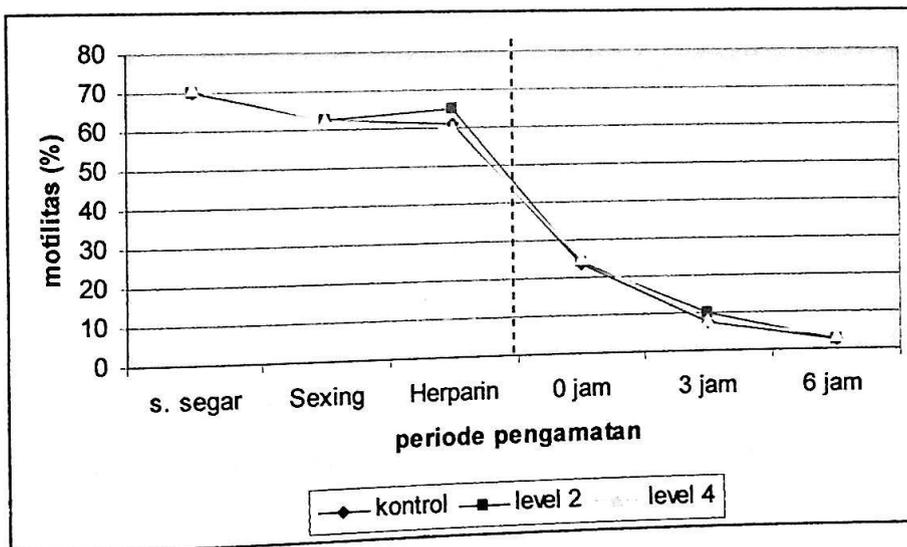
B. Motilitas Spermatozoa

Hasil analisis ragam (Lampiran 3) menunjukkan perlakuan medium pemisah berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap motilitas spermatozoa. Sedangkan level heparin dan interaksi antara medium tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa medium pemisah ayam ras dapat membedakan motilitas fraksi atas (konsentrasi 10%) dengan motilitas fraksi bawah (konsentrasi 30%) (Gambar 2). Uji BNT (Lampiran 6) motilitas spermatozoa Y sangat nyata ($P < 0,01$) lebih tinggi dari spermatozoa X hal ini disebabkan kemungkinan dipengaruhi oleh perbedaan ukuran dan massa antara spermatozoa X dan spermatozoa Y, dimana spermatozoa Y mempunyai massa dan ukuran kepala yang lebih kecil, ringan sehingga pergerakannya lebih cepat dan mampu menembus konsentrasi yang lebih pekat (30%) dibandingkan dengan spermatozoa X yang memiliki ukuran kepala yang lebih besar tidak mampu menembus konsentrasi 30%, sehingga hanya berada pada konsentrasi rendah (10%). Hal ini sesuai dengan pendapat Jaswandi (1992) bahwa massa dan ukuran sperma Y yang lebih kecil dari sperma X, menyebabkan sperma Y tersebut mampu bergerak lebih cepat atau mempunyai daya penetrasi yang lebih tinggi untuk memasuki suatu larutan. Demikian pula pendapat Hafez (1993) bahwa spermatozoa X mengandung kromatin lebih banyak pada kepalanya, sehingga mengakibatkan ukuran kepala spermatozoa lebih besar sedangkan spermatozoa Y, sehingga spermatozoa Y lebih cepat dan lebih banyak bergerak serta kemungkinan mengandung materi genetik dan DNA lebih sedikit dibandingkan spermatozoa X.

Hasil analisa periode pengamatan mulai semen segar sampai periode pengamatan 6 jam terjadi penurunan, namun ada perbedaan laju penurunan xpermatozoa X dan Y (Gambar 2) dan laju penurunan pada level 0, 2 dan 4IU/ml relatif sama (Gambar 3).



Gambar 2. Pengaruh Medium Pemisah terhadap Motilitas Spermatozoa Hasil Sexing Kromozom X dan Kromozom Y



Gambar 3. Pengaruh Penambahan Level Heparin Terhadap Motilitas Spermatozoa Hasil Sexing Pembawa Kromozom X dan Y

Gambar 2 menunjukkan bahwa motilitas spermatozoa Y yang tinggi ini selain dipengaruhi oleh perbedaan ukuran dan massa juga dipengaruhi oleh kandungan albumen yang lebih tinggi pada medium pemisah 30% dibandingkan medium pemisah 10%. Kandungan albumin yang lebih tinggi pada medium pemisah 30% memungkinkan zat antibiotikannya dapat menghancurkan beberapa bakteri sehingga kemampuan motilitas spermatozoa Y pada medium pemisah 30% lebih tinggi bila dibandingkan dengan spermatozoa X pada medium pemisah 10%. Hal ini sesuai dengan pendapat Martin *et al* (1983) disitir oleh Pancahastana (1999) bahwa dalam albumen terdapat zat yang disebut *lysozyme* yang merupakan senyawa protein yang mengandung antibiotika yang dapat menghancurkan beberapa bakteri yang dapat membunuh spermatozoa yang telah dipisahkan. Hal ini sesuai dengan pendapat Susilawati (2003) bahwa pada medium pemisah 30% kandungan agen bakteri *avidin* dan *lysozyme* yang terdapat dalam putih telur lebih banyak sehingga motilitas dan persentase hidup spermatozoa Y lebih tinggi dibanding spermatozoa X.

Gambar 3 menunjukkan bahwa pada semua level baik pada kontrol maupun yang ditambahkan heparin laju penurunan motilitasnya tidak berbeda nyata. Ini menunjukkan bahwa pemberian heparin pada pengencer tidak mampu menginduksi spermatozoa selama periode pengamatan. Hasil ini tidak sesuai dengan penelitian Pereira, dkk (2000) bahwa heparin 1 – 5 IU/ml yang ditambahkan pada semen sapi dan kambing yang sudah dicairkan selama inkubasi 30 menit dapat menstimulasi spermatozoa. Selama inkubasi spermatozoa.

C. Persentase Hidup Spermatozoa

Hasil analisis ragam (Lampiran 8) menunjukkan bahwa perlakuan medium, level, dan interaksi antara medium dan level tidak berpengaruh nyata ($P > 0.05$) hal ini menunjukkan tidak ada perbedaan persentase hidup spermatozoa X dan spermatozoa Y, demikian juga dengan level heparin tidak mempengaruhi persentase hidup spermatozoa (Tabel 3).

Tabel 3. Rataan Persentasi Hidup Spermatozoa X dan Y pada Pengamatan

Pengamatan	Spermatozoa X	Spermatozoa Y
0 jam	31.88±4.16	32.25±7.27
3 jam	21.88±2.59	21.57±4.00
6 jam	16.16±2.07	14.87±3.57

Keterangan : Menggunakan Paket Program SPSS for Windows 10,0

Tabel 3 menunjukkan bahwa tidak adanya perbedaan persentase hidup spermatozoa X dan spermatozoa Y yang cukup berarti antara periode pengamatan spermatozoa X dengan Y. Kemungkinan hal ini dipengaruhi oleh proses pengenceran dan centrifugasi. Proses pengenceran semen dapat merusak membran plasma dan menurunkan motilitas. Hal ini sesuai dengan pendapat Maxwell and Watson (1996) bahwa pengenceran semen akan menyebabkan kerusakan akrosom yang berdampak pada penurunan metabolisme sel, dehidrasi sehingga mengakibatkan turunnya motilitas dan persentase hidup yang ditandai dengan banyak spermatozoa yang mengalami *cold shock*. Spermatozoa yang mengalami *cold shock* akan lebih cepat mati sehingga ketika dilakukan sexing

akan semakin banyak jumlah spermatozoa yang mati, walaupun setelah proses sexing ditambahkan pengencer dan heparin dengan level yang berbeda.

Medium pemisah albumen telur baik fraksi atas (konsentrasi 10%) maupun fraksi bawah (konsentrasi 30%) tingkat persentase hidup spermatozoa relatif sama/tidak berbeda nyata (tabel 3) hal ini juga disebabkan karena medium pemisah albumen telur berperan penting dalam proses perubahan rasio spermatozoa X dan spermatozoa Y serta dapat mempertahankan kualitas spermatozoa. Selain itu, albumen telur memiliki kandungan protein (albumen) yang mampu melindungi spermatozoa dari mikroorganisme. Hal ini di dukung oleh pendapat susilawati, dkk., (2002) bahwa didalam albumen terdapat zat yang disebut *lysozyme* yang mengandung antibiotika yang dapat menghancurkan beberapa bakteri dalam hal ini zat yang dapat membunuh spermatozoa hasil sexing.

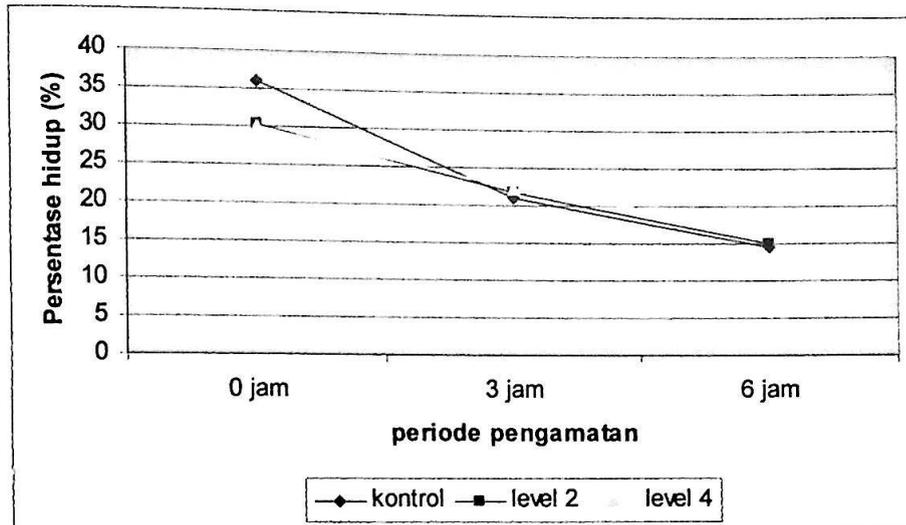
Pada tabel 3 dapat dilihat persentase hidup spermatozoa X (konsentrasi 10%) lebih tinggi dari pada spermatozoa Y (konsentrasi 30%) pada periode pengamatan 3 jam sampai 6 jam. Hal ini disebabkan pada lapisan bawah spermatozoa Y (konsentrasi 30%) tingkat kematian spermatozoa lebih cepat dibandingkan pada spermatozoa X (konsentrasi 10%). Dengan konsentrasi rendah spermatozoa X lebih cepat membentuk endapan dibandingkan lapisan spermatozoa Y. Karena pada lapisan X tidak mempunyai *flourescen body*. Sesuai dengan pendapat Hafez (1993) mengemukakan bahwa spermatozoa Y dapat diidentifikasi dengan *flourescen body* dan motilitasnya lebih cepat.

akan semakin banyak jumlah spermatozoa yang mati, walaupun setelah proses sexing ditambahkan pengencer dan heparin dengan level yang berbeda.

Medium pemisah albumen telur baik fraksi atas (konsentrasi 10%) maupun fraksi bawah (konsentrasi 30%) tingkat persentase hidup spermatozoa relatif sama/tidak berbeda nyata (tabel 3) hal ini juga disebabkan karena medium pemisah albumen telur berperan penting dalam proses perubahan rasio spermatozoa X dan spermatozoa Y serta dapat mempertahankan kualitas spermatozoa. Selain itu, albumen telur memiliki kandungan protein (albumen) yang mampu melindungi spermatozoa dari mikroorganisme. Hal ini didukung oleh pendapat susilawati, dkk., (2002) bahwa didalam albumen terdapat zat yang disebut *lysozyme* yang mengandung antibiotika yang dapat menghancurkan beberapa bakteri dalam hal ini zat yang dapat membunuh spermatozoa hasil sexing.

Pada tabel 3 dapat dilihat persentase hidup spermatozoa X (konsentrasi 10%) lebih tinggi dari pada spermatozoa Y (konsentrasi 30%) pada periode pengamatan 3 jam sampai 6 jam. Hal ini disebabkan pada lapisan bawah spermatozoa Y (konsentrasi 30%) tingkat kematian spermatozoa lebih cepat dibandingkan pada spermatozoa X (konsentrasi 10%). Dengan konsentrasi rendah spermatozoa X lebih cepat membentuk endapan dibandingkan lapisan spermatozoa Y. Karena pada lapisan X tidak mempunyai *flourescen body*. Sesuai dengan pendapat Hafez (1993) mengemukakan bahwa spermatozoa Y dapat diidentifikasi dengan *flourescen body* dan motilitasnya lebih cepat.

Hasil analisis ragam terhadap periode pengamatan menunjukkan persentase hidup spermatozoa berpengaruh nyata ($P < 0,05$) tetapi ada perbedaan laju penurunan antara level heparin dari 0 jam sampai 6 jam (Gambar 4)



Gambar 4. Pengaruh Penambahan Heparin Terhadap Persentasi Hidup Spermatozoa Hasil Sexing Pembawa Kromozom X dan Y

Gambar 4 menunjukkan bahwa spermatozoa hasil sexing yang mengalami penurunan persentase hidup sangat drastis pada perlakuan level kontrol dibandingkan pada level 2 (2 IU/ml) dan level 4 (4 IU/ml). Selama periode pengamatan penambahan level heparin menunjukkan pola penurunan yang sama. Namun lama periode pengamatan dari tiga jam ke enam jam pada level 2 pengaruhnya lebih nyata dibandingkan dengan level 4. Hal ini kemungkinan disebabkan pada perlakuan kontrol selaput membran plasma spermatozoa mengalami kerusakan dibandingkan dengan perlakuan penambahan heparin, sehingga proses metabolisme tidak berjalan dengan baik yang berakhir dengan kematian spermatozoa. Sedangkan spermatozoa yang ditambahkan heparin

persentase hidupnya dapat dipertahankan. Hal ini mungkin disebabkan karena heparin dapat merangsang motilitas, sehingga mempercepat reaksi akrosom dan kapasitas spermatozoa, sesuai dengan pendapat Park.,(1989) bahwa dengan penambahan heparin pada media pemisah dapat merangsang motilitas dan pergerakan dari spermatozoa setelah pemisahan kromosom X dan kromosom Y. dimana heparin dapat bekerja secara sinergis mempercepat kapasitas dan reaksi akrosom.

Pengaruh level heparin yang baik terhadap motilitas spermatozoa hasil sexing selama periode pengamatan adalah pada penambahan level 2 IU/ml. Hal ini disebabkan karena heparin yang terikat pada spermatozoa, muncul untuk merangsang tingginya kalsium antar sel, pH dan cAMP dan pembersihan protein plasma mani dan membran plasma yang dianggap dapat menghambat kapasitas (Cormier dan Balley, 2003). Hal ini didukung oleh Yangimachi (1989) bahwa, kapasitas secara khusus merupakan suatu perubahan yang membuat spermatozoa mampu mengalami reaksi akrosom, di mana pengaturan biokimia membran plasma spermatozoa dapat diaktivasi dengan heparin.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Heparin dapat mengurangi laju penurunan pada persentase hidup spermatozoa sapi Limousin setelah thawing.

Saran

Untuk meningkatkan produksi dan produktivitas ternak dapat dilakukan teknologi IB dengan menggunakan spermatozoa hasil sexing yang ditambahkan dengan heparin yang dapat merangsang motilitas yang tinggi. Namun demikian penelitian mengenai pembuatan semen beku dengan penambahan level level heparin yang berbeda masih perlu dilakukan untuk mengetahui tingkat pengaruh yang lebih baik terhadap spermatozoa hasil sexing.



DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1998. *Prosedur dan Tatacara Kerja dan Distribusi Semen Beku*. Direktorat Jenderal Peternakan Departemen Pertanian. BIB Lembang, Bandung.
- , 2002. *Buku Panduan Sexing Spermatozoa*. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, Malang.
- , 2006. *Vashes du Monde. La Limousin*. <http://www.lavache.com/vamonde/france/limousin.htm>. 2-13-2006.
- Bade, D.H. dan Blakely. J. 1994. *Ilmu Peternakan*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- BIB. 1992. *Prosedur dan Tatacara Kerja dan Dsistribusi Semen Beku*. Direktorat Jenderal Peternakan Departemen Pertanian. BIB Lembang, Bandung.
- Bearden, H.J., JW and Fuquay. 1984. *Applied Animal Reproduction*. 2nd Edition. Reston Publishing Company Inc. A Prentice-Hall Company. Reston, Virginia.
- Chamineau, P.Y., J.W. Cagnie., J.C. Orocuraand, Vallet. 1991. *Training Manual of Artificial Insemination to Sheep and Goats*, FAO, Roma.
- Cormier, N., and Balley, J.L. 2003. *A Differential Mechanism is Involved During Heparin and Cryopservatio- Induced Capacitation of Bovine Spermatozoa*. Departement Sciences Animales Universite Laval, Canada.
- Devendra, C dan M. Burn. 1994. *Produksi Kambing di Daerah Tropis*, Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Dorland. 1996. *Kamus Kedokteran*. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Erb, R.E., Mikota, F.E. Flercinger and M.H. Fehler. 1985. *Influence of Antibiotik of Fertility of Bull Semen Diluted with Milk*. J. Anim. Sci. 33 : 331 – 336.
- Evans, G., and Maxwell, WMC. 1990. *Salamon Artificial Insemination of Sheep and Goat*. Butterworths Psy Limited, Australia.
- Gasperz, V. 1991. *Metode Rancangan Percobaan*. Armico, Bandung

- Hafez, E.S.E. 1993. *Reproduction in Farm Animals*. 7th Edition. Lea Febiger. Philadelphia : 440 -443.
- Hazelwood R.I. 1983. *Adaption of Metabolism to Various Condition : Egg Production in Fowl*. In *Dinamic Biochemistry of Animal Production*. Word Animal Science A3. Riis, PM (Editors). Elsevier Science Publisher BV. Amsterdam.
- Hastuti. 2005. *Kualitas Semen Kambing Boer Hasil Sexing Spermatozoa X dan Y dengan Penambahan Calcium Ionophore Pada Level yang Berbeda*. Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Hunter, R.H.F. 1995. *Fisiologi dan Teknologi Reproduksi Hewan Betina Domestik*. ITB, Bandung.
- Isnaini, N. 1994. *Pemisahan Spermatozoa X dan Y pada Sapi Fries Holland dengan Centrifuge Gradien Densitas Percoll*. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya. Malang, Akses 04 Desember 2004.
<http://digilib.Brawijaya.ac.id>
- Jaswandi. 1996. *Penggunaan Lapisan Suspensi Bovine Serum Albumen 6 dan 10 persen Dalam Kolum untuk Memisahkan Sperma Sapi Pembawa Kromozom X dan Y Guna Mengatur Ratio Sex pada Pedet*. Tesis. Program Pascasarjana. Institut Teknologi Bogor, Bogor.
- Johnson, L.A. 2000. *Sexing Mammalia Sperm for Production of off spring : the State of-the-art*, *Anim. Reprod.Sc.* 60-61 : 93 – 107.
- Kryzaniak, L.T and E.S. E. Hafez. 1987. *X dan Y Chromosome Bearing Spermatozoa in Reproduction in Farm Animal* by Hafez, E.S.E. 5th Edition. Lea and Febiger Philadelphia.
- Max well, W.M.C. and Watson. 1996. *Recent Progress in the preservation of ram semen*. *Animal Reproduction Research and Practice* 13th International Kongress on Animal Reproduction. Stone and Evan (editor), Elsevier. Sidney, Australia.
- Mahaputra, L. Wurlina, T.D. Sulistyati, S. Mulyati. 1989. *Pemisahan Spermatozoa Domba dengan Sephadex Collum G-200*. *Media Kedokteran Hewan*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya.
- Mc. Williams. 1997. *Foods Experimental Perpestives* Third Edition. Prentive Hall. Inc, New Jersey.

- Meistrich. M.L. 1982. Potential and Limitation of Physical Method for Separating of Sperm. Bearing an X or Y Chromosome. In Prospect for Sexing Mammalia Sperm. Edition. Rp Amman and G.E, Seidel., 143 – 168.
- Nuranty. 2005. Pengaruh Penambahan Heparin pada Level yang Berbeda Terhadap Kualitas Semen Cair Kambing Boer Hasil Pemisahan Spermatozoa X dan Y, Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Nur. K,S. 2006. Peternak Sapi di Ngalik, Sleman. Yogyakarta.
<http://www.PikiranRakyat.com>
- Partodiharjo, S. 1992. Ilmu Reproduction Hewan. Mutiara, Jakarta.
- Pancahastana, H. 1999. Upaya merubah sex rasio spermatozoa dengan melakukan pemisahan spermatozoa X dan Y menggunakan putih telur pada sapi Bali. Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya, Malang.
- Pereira, R.J.T.A., R.k. Uli., S. Walledshortand W. Holtz. 2000. The Effect of Heparin, Caffein, and Calcium Ionophore A 23187 an in vitro induction of the acrosome reaction in frozen-thawed bovine and caprine Spermatozoa. J. Theriogenology. 54 : 185 – 192.
- Saili, T. 1999. Efektivitas Penggunaan Albumen sebagai Medium Separasi dalam Upaya Mengubah Rasio Alamiah Spermatozoa Pembawa Kromosom X dan Y pada Sapi. Tesis Pasca Sarjana IPB, Bogor.
- Salisbury, G. W. and N.L Van Dermark 1985. Fisiologi Reproduction dan Insemination Buatan pada Sapi. Gadjah MadaUniversity Press, Yogyakarta.
- Susilawati, T. 2003. Penentuan dan Pengaturan Jenis Kelamin. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, Malang.
- Sumitro, S.B. Soehartojo, Mantra, Y dan Nuryadi. 2002. Pola Kapasitas Spermatozoa X dan Y sapi Hasil Pemisahan dengan Menggunakan Filtrasi Sephadex, dan Sentrifuge Gradien Densitas Percoll. Fakultas Peternakan Unibraw, Fakultas Peternakan Unibraw, Fakultas MIPA unibraw, Fakultas Kedokteran Hewan Unair. Dispet NTT. Akses 06 Desember 2005, <http://diglib.brawijaya.ac.id>
- Toelihere, M.R. . dan T.L. Yusuf. 1976. Pengantar Praktikum Inseminasi Buatan Edisi 4. Fakultas Kedokteran Hewan. IPB, Bogor.
- Toelihere, M.R. 1993. Inseminasi Buatan pada Ternak. Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor. Angsa, Bandung.

----- dan T.L. Yusuf. 1985. Pengantar Praktikum Inseminasi Buatan
Edisi 4. Fakultas Kedokteran Hewan, IPB. Bandung.

Vishwanath, R. and Shannon. 2000. Storage of Bovine Semen in Liquid and
Frozen State. Anim. Reprod. Sci 62 : 23 – 53

Wahjuningsih, S., T. Susilawati, G. Ciptadi. 1998. Pengaruh Pemberian PMSG
Dan Kombinasi PMSG-HCG terhadap Kualitas air mani Kambing PE.
Jurnal ilmu-ilmu Hayati Vol.10 – No.2 : 52-57.
<http://diglib.Brawijaya.ac.id>

Watson, P.F. 2000. The Causes of Reduced Fertility with Cryopreserved Semen.
Anim. Reprod. Sci. 60 – 61 : 481 – 492

Yanagimachi, R. 1989. Sperm Capacitation and Gamete Interaction. J. Reprod.
Fertill. 38 : 27

Lampiran 1. Kualitas Semen Segar Sapi Limousin

Parameter	Hasil				Rata-rata
	Penampungan 1	Penampungan 2	Penampungan 3	Penampungan 4	
A. Makroskopis					
Warna	Putih susu	Putih Susu	Putih Susu	Putih Susu	Putih susu
Kosistensi	Sedang	Sedang	Sedang	Sedang	Sedang
PH	5,8	5,8	5,8	5,4	5,7
Volume (cc)	5	5	4,5	3	4.375
B. Mikroskopis					
Motilitas	70	70	70	70	70
Gerakan Massa (%)	3 ⁺	2 ⁺	2 ⁺	2 ⁺	2+

Lampiran 2. Data Motilitas Semen Sapi limousin Dengan Penambahan Heparin Dengan Level yang Berbeda#

Medium pemisah	Level	Ulangan	semen segar	sexing	heparin	0 jam	3 jam	6 jam
1	1	1	70	50	50	9.73	5	1.88
1	1	2	70	60	60	17.09	8.75	5
1	1	3	70	60	60	31.46	3	1.25
1	1	4	70	50	50	6.88	6.75	2.5
Rata-rata			70	55	55	16.25	5.875	2.72
1	2	1	70	50	50	10.63	1.25	0
1	2	2	70	60	70	30.17	10	1.5
1	2	3	70	60	70	30.63	16.75	1.88
1	2	4	70	50	50	7.5	13.13	0
Rata-rata			70	55	60	19.7325	10.2825	0.845
1	3	1	70	50	60	15	1.25	6.25
1	3	2	70	60	60	23.53	7.5	4.38
1	3	3	70	60	60	23.13	9.55	1.88
1	3	4	80	50	60	26.25	16.88	5
Rata-rata			70	55	60	21.9775	8.795	4.3775
2	1	1	70	70	70	28.78	0.55	1.85
2	1	2	70	70	70	31.55	13.75	3.13
2	1	3	70	70	60	40.84	13.88	3.75
2	1	4	70	70	70	20	7.5	2.5
Rata-rata			70	70	67,5	30.2925	8.92	13.73
2	2	1	70	70	70	20.63	5.23	4.38
2	2	2	70	70	70	32.08	8.75	3.35
2	2	3	70	70	70	32.08	14.15	3.13
2	2	4	70	70	70	28.75	8.75	6.25
Rata-rata			70	70	70	28,385	9.22	4.2775
2	3	1	70	70	70	16.88	0.55	0
2	3	2	70	70	50	19.25	6.88	3.1
2	3	3	70	70	70	30.63	13.13	3.13
2	3	4	70	70	50	46.25	8.75	2.5
Rata-rata			70	70	60	28.2525	7.3275	2.1825

Keterangan : #Menggunakan Paket Program SPSS 10,0 for Windows

Lampiran 3. Hasil Analisis Ragam Pengaruh Penambahan Heparin Pada Motilitas Semen Beku Hasil Sexing #

Sumber Keragaman	JK	Dbf	KT	F. Hitung	Sig.
Luar subjek	212366.209	1	212366.209	3260.556	0
Medium	1020.456	1	1020.456	15.668	0.001
Level	30.009	2	15.005	0.23	0.797
Medium* Level	154.199	2	77.099	1.184	0.329
Error	1172.374	18	65.132		
Dalam Subek					
Priode pengamatan motilitas					
Linear	99242.785	1	99242.785	13032.921	0
Kuadratik	699.641	1	699.641	17.069	0.001
Kubik	4945.722	1	4945.722	174.315	0
order 4	935.752	1	935.752	61.095	0
order 5	2962.141	1	2962.141	65.769	0
Priode pengamatan*Medium					
Linear	110.226	1	110.226	14.475	0.001 *
Kuadratik	523.347	1	523.347	12.768	0.002*
Kubik	344.805	1	344.805	12.153	0.003*
Order 4	28.828	1	28.828	1.882	0.187
order 5	223.43	1	223.43	4.961	0.039*
Priode pengamatan *Level					
Linear	0.592	2	0.296	0.039	0.962
Kuadratik	39.214	2	19.607	0.478	0.627
Kubik	9.986	2	4.993	0.176	0.84
Order 4	0.464	2	0.232	0.015	0.985
Order 5	75.639	2	37.82	0.84	0.448
Priode pengamatan*Medium*Level					
Linear	1.435	2	0.718	0.094	0.911
Kuadratik	51.805	2	25.902	0.632	0.543
Kubik	19.449	2	9.725	0.343	0.714
Order 4	47.899	2	23.95	1.564	0.237
Order 5	28.114	2	14.057	0.312	0.736
Error					
Linear	137.066	18	7.615		
Kuadratik	737.794	18	40.989		
Kubik	510.702	18	28.372		
Order 4	275.695	18	15.316		
Order 5	810.696	18	45.039		

Keterangan : # Menggunakan Paket Program SPSS 10,0 for Windows
* berpengaruh nyata pada taraf 0,05

Lampiran 4. Rataan Motilitas Spermatozoa X dan Y Pada Periode Pengamatan #

Hari Pengamatan	Spermatozoa X	Spermatozoa Y
Semen Segar	70.8333± 2.8868	70.0000±0000
Medium Pemisah	55.0000±5.2223	70.0000±0000
Penambahan Heparin	58.3333 ±7.1774	65.8333±7.9296
0 jam	19.3333 ±9.3365	28.9767±8.8369
3 Jam	8.3175±5.3464	8.4892±4.7747
6 Jam	2.6263±2.0478	3.0892±1.4752

Keterangan : #Menggunakan Paket Program SPSS 10,0 for Windows

Lampiran 5. Uji Beda Nyata Terkecil Interaksi Medium Pemisah dengan Periode Pengamatan Terhadap Motilitas Spermatozoa X dan Y Hasil Sexing#

Variabel Bebas	(I)FAK A	(J) FAK B	Selisih (I-J)	Std Error	Sig
Medium Pemisah	Fraksi Atas (X)	Fraksi Bawah (Y)	-5.324*	1.345	0.01*
	Fraksi Bawah (Y)	Fraksi Atas (X)	5.324*	1.345	0.01*

Keterangan : # Menggunakan Paket Program SPSS 10.0 For Windows

: * Berpengaruh Nyata Pada Taraf 0,01

Lampiran 6. Uji Beda Nyata Terkecil Periode Pengamatan terhadap Motilitas Spermatozoa X dan Y Hasil Sexing#

Variabel Bebas	(I) FAK A	(J) FAK C	Selisih (I-J)	Std.Error	Sig
periode pengamatan	1	2			
		3	7.917(*)	1.049	.000
		4	8.333(*)	1.559	.000
		5	46.262(*)	2.002	.000
		6	62.013(*)	.998	.000
		6	67.559(*)	.477	.000
	2	1	-7.917(*)	1.049	.000
		3	.417	1.250	.743
		4	38.345(*)	1.695	.000
		5	54.097(*)	1.276	.000
		6	59.642(*)	.878	.000
		6	59.642(*)	.878	.000
	3	1	-8.333(*)	1.559	.000
		2	-.417	1.250	.743
		4	37.928(*)	2.213	.000
		5	53.680(*)	1.789	.000
		6	59.226(*)	1.516	.000
		6	59.226(*)	1.516	.000
	4	1	-46.262(*)	2.002	.000
		2	-38.345(*)	1.695	.000
		3	-37.928(*)	2.213	.000
		5	15.752(*)	1.824	.000
		6	21.297(*)	1.980	.000
		6	21.297(*)	1.980	.000
5	1	-62.013(*)	.998	.000	
	2	-54.097(*)	1.276	.000	
	3	-53.680(*)	1.789	.000	
	4	-15.752(*)	1.824	.000	
	6	5.546(*)	1.045	.000	
	6	5.546(*)	1.045	.000	
6	1	-67.559(*)	.477	.000	
	2	-59.642(*)	.878	.000	
	3	-59.226(*)	1.516	.000	
	4	-21.297(*)	1.980	.000	
	5	-5.546(*)	1.045	.000	

Keterangan :# Menggunakan Paket Program SPSS 10,0 For Windows
 * Berpengaruh nyata pada Taraf 0,05

Lampiran 7. Data Persentase Hidup Semen Sapi Limousin Dengan Penambahan Heparin Pada Level yang Berbeda#.

medium	level	ulangan	0 jam	3 jam	6 jam
1	1	1	34.86	17.7	16.74
1	1	2	30.99	21.29	16.12
1	1	3	38.15	18.19	11.79
1	1	4	35.95	20.64	16.52
		Rata-rata	34.9875	19.455	15.2925
1	2	1	36.15	26.24	20.3
1	2	2	28.65	23.55	15.53
1	2	3	36.58	24.93	13.99
1	2	4	27.69	20.45	16.96
		Rata-rata	32.2675	23.7925	17.445
1	3	1	26.48	23.09	16.81
1	3	2	30.58	22.47	15.88
1	3	3	28.31	20.3	15.26
1	3	4	28.2	23.72	18.02
		Rata-rata	28.3925	22.395	16.4925
2	1	1	39.58	19.65	15.92
2	1	2	36.05	24.13	14.62
2	1	3	35.74	23.5	12.26
2	1	4	35.99	23.32	12.62
		Rata-rata	36.84	22.65	13.855
2	2	1	21.17	13.44	11.38
2	2	2	27.55	15.89	11.38
2	2	3	35.22	25.24	14.46
2	2	4	28.61	24.44	16.07
		Rata-rata	28.1375	19.7525	13.3225
2	3	1	19.22	17.17	22.08
2	3	2	32.26	24.04	20.1
2	3	3	44.48	25.09	10.63
2	3	4	31.21	22.93	16.97
		Rata-Rata	31.7925	22.3075	17.445

Keterangan : # Menggunakan Paket Program SPSS 10,0 for Windows

Lampiran 8. Hasil Analisis Ragam Pengaruh Penambahan Heparin Pada Persentasi\ Hidup (PH) Semen Beku Hasil Sexing #.

Sumber Keragaman	JK	Dbf	KT	F. Hitung	Sig.
Luar subjek	38433.18	1	38433.181	2011.629	0
Medium	2.992	1	2.992	0.157	0.697
Level	27.719	2	13.86	0.725	0.498
Medium* Level	106.633	2	53.316	2.791	0.088
Error	343.899	18	19.106		
Dalam Subjek					
periode Pengamatan Persetasi Hidup					
Linear	3287.873	1	3287.873	128.9	0**
Kuadratik	68.416	1	68.416	19.388	0**
Periode Pengamatan PH*Medium					
Linear	8.273	1	8.273	0.324	0.576
Kuadratik	8.44E-02	1	8.44E-02	0.024	0.879
Periode Pengamatan PH*Level					
Linear	146.08	2	73.04	2.864	0.083
Kuadratik	36.39	2	18.195	5.156	0.017*
Periode Pengamatan PH*Medium*Level					
Linear	9.124	2	4.562	0.179	0.838
Kuadratik	18.754	2	9.377	2.657	0.097
Error (PH)					
Linear	459.127	18	25.507		
Kuadratik	63.518	18	3.529		

Keterangan : # Menggunakan Paket Program SPSS 10,0 for Windows

Lampiran 9. Rataan Persentasi Hidup Spermatozoa X dan Y periode Pengamatan#

Pengamatan	Spermatozoa X	Spermatozoa Y
0 jam	31.8825±4.1670	32.2567±7.2720
3 jam	21.8808±2.5904	21.5700±4.0090
6 jam	16.1602±2.0721	14.8738±3.5766

Keterangan : # Menggunakan Paket Program SPSS 10,0 for Windows

Lampiran 10. Uji Beda Nyata Terkecil Interaksi Medium Pemisah dengan Periode Pengamatan Terhadap Persentasi Hidup Spermatozoa X dan Y Hasil Sexing#

Variabel Bebas	(I)FAK A	(J) FAK B	Selisih (I- J)	Std Error	Sig
Medium Pemisah	Fraksi Atas (X)	Fraksi Bawah (Y)	.408	1.030	.697
	Fraksi Bawah (Y)	Fraksi Atas (X)	-.408	1.030	.697

Keterangan : #Menggunakan Paket Program SPSS 10.0 For Windows

Lampiran 11. Uji Beda Nyata Terkecil Periode Pengamatan terhadap Persentasi Hidup Spermatozoa X dan Y Hasil Sexing#

Variabel Bebas	(I) FAK A	(J) FAK C	Selisih (I-J)	Std.Error	Sig
Persentasi hidup	1	2	10.344(*)	.875	.000
		3	16.553(*)	1.458	.000
	2	1	-10.344(*)	.875	.000
		3	6.208(*)	.859	.000
	3	1	-16.553(*)	1.458	.000
		2	-6.208(*)	.859	.000

Keterangan : # Menggunakan Paket Program SPSS 10,0 For Windows

* Berpengaruh Nyata pada taraf 0,01

RIWAYAT HIDUP



ANDI HAMDANA, I 111 01 018, dilahirkan tanggal 06 desember 1982 di Madello Soppeng, sebagai anak bungsu dari lima bersaudara dari pasangan Andi Danial dan Andi Siti Hidayah

Pada tahun 1995 berhasil menyelesaikan Pendidikan Tingkat Sekolah dasar SDN 25 Madello Soppeng, tahun 1997 lulus pendidikan Tingkat Menengah Pertama di SLTP Negeri I Watansoppeng, dan tahun 2001 menyelesaikan pendidikan di SMUN I Watansoppeng. Diterima di Universitas Hasanuddin Fakultas Peternakan jurusan Produksi Ternak pada tahun 2001, dan aktif dikegiatan ekstra menjadi badan pengurus SAR UNHAS