

TESIS

**PENGARUH TEPUNG KUNING TELUR SEBAGAI
PENGECER ALTERNATIF TERHADAP KUALITAS
SPERMATOZOA SAPI BALI**

**EFFECT OF EGG YOLK POWDER AS AN ALTERNATIVE
EXTENDER ON THE QUALITY OF BALI BULL SPERMS**

**DINA ARDIANA
I012211009**



**ILMU DAN TEKNOLOGI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

TESIS

PENGARUH TEPUNG KUNING TELUR SEBAGAI PENGECER ALTERNATIF TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA SAPI BALI

Disusun dan diajukan oleh

**DINA ARDIANA
I012211009**



**ILMU DAN TEKNOLOGI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

TESIS

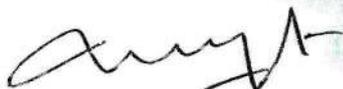
**PENGARUH TEPUNG KUNING TELUR SEBAGAI PENGECER ALTERNATIF
TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA SAPI BALI**

Disusun dan diajukan oleh

DINA ARDIANA
NIM. I012211009

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam
rangka Penyelesaian Studi Program Magister Program Studi Ilmu dan
Teknologi Peternakan Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin
Pada tanggal 28 November 2023
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Pembimbing Utama,



Prof. Ir. Muhammad Yusuf, S.Pt., Ph.D., IPU
NIP. 197007251999031001

Pembimbing Anggota,



Dr. Ir. Zulkhamaim, S.Pt., M.Si., IPM
NIP. 198504222015041001

Ketua Program Studi
Ilmu dan Teknologi Peternakan



Prof. Dr. Ir. Ambo Ako, M. Sc., IPU
NIP. 19641231 198903 1 026

Dekan Fakultas Peternakan
Universitas Hasanuddin



Dr. Syahdar Baba, S.Pt., M.Si
NIP. 19731217 200312 1 001

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Dina Ardiana
Nomor Induk Mahasiswa : I012211009
Program studi : Ilmu dan Teknologi Peternakan
Jenjang : S2

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul:

PENGARUH TEPUNG KUNING TELUR SEBAGAI PENGECER ALTERNATIF TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA SAPI BALI

Adalah karya tulisan ini saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain. Tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 28 November 2023
Yang Menyatakan



Dina Ardiana

ABSTRAK

Dina Ardiana. I012211009. Pengaruh Tepung Kuning Telur sebagai Pengencer Alternatif Terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Bali. Dibimbing oleh: **Muhammad Yusuf dan Zulkharnaim**

Pengencer tris-kuning telur merupakan pengencer semen yang memiliki kandungan glukosa yang digunakan sebagai sumber energi dan sumber asam amino bagi spermatozoa. Penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan pengencer alternatif berbahan baku tepung kuning telur yang efisien digunakan dalam mempertahankan kualitas spermatozoa sapi Bali. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan dan 5 ulangan. Semen dengan kualitas spermatozoa yang baik dibagi menjadi tiga bagian yang diencerkan menggunakan pengencer tris, yaitu: P0 (tris-kuning telur segar 20%), P1 (tris-tepung kuning telur (oven) 20%) dan P2 (tris- tepung kuning telur komersial). Parameter yang diukur pada penelitian ini adalah kualitas spermatozoa (motilitas progresif, viabilitas, abnormalitas dan MPU) parameter tersebut diukur pada semen segar, setelah pengenceran dan *post-thawing*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kualitas semen segar secara makroskopis diperoleh volume rata-rata sebesar 3,8 mL, warna krem, bau khas, konsistensi kental dengan pH 6,4. Secara mikroskopis diperoleh motilitas individu, motilitas progresif, konsentrasi, viabilitas, abnormalitas dan membran plasma utuh masing-masing 86,27%, 74,31%, 1676×10^6 sel/mL, 87,68%, 11,90% dan 91,10%. Motilitas progresif, viabilitas, abnormalitas dan membran plasma utuh spermatozoa setelah pengenceran pada perlakuan P2 berbeda nyata ($P < 0,05$) lebih rendah dibandingkan P0 dan P1. Selain itu, data hasil evaluasi motilitas progresif, viabilitas, abnormalitas dan membran plasma utuh spermatozoa setelah pembekuan (*post thawing*) pada perlakuan P0 tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dengan P1. Disimpulkan bahwa bubuk kuning telur dapat digunakan sebagai alternatif pengganti kuning telur segar sebagai bagian dari pengencer semen.

Kata Kunci : Kualitas spermatozoa, kuning telur segar, tepung kuning telur, sapi Bali

ABSTRACT

Dina Ardiana. I012211009. Effect of Egg Yolk Powder as an Alternative Extender on the Quality of Bali Bull Sperms. Supervised by: **Muhammad Yusuf and Zulkharnaim**

Egg yolk-Tris extender is a semen extender that contains glucose which is used as an energy and amino acid sources to the sperms. This study aimed to produce an alternative extender made from egg yolk powder that is efficient in maintaining the quality of Bali bull sperms. The study was using a Completely Randomized Design (CRD) of 3 treatments with 5 replications. Semen with good sperm quality was divided into three groups and diluted using the following Tris extender: P0 (fresh egg yolk- Tris 20%), P1 (drying egg yolk powder-Tris 20%) and P2 (commercial egg yolk powder-Tris 20%). The parameters measured in this study were the quality of sperms (progressive motility, viability, abnormality and intact plasma membrane). These parameters were measured on fresh semen, after dilution and post-thawing. The results showed that the macroscopic quality of fresh semen obtained was an average volume of 3,8 mL, creamy color, specific odor, thick consistency with pH of 6,4. Microscopically, the individual motility, progressive motility, concentration, viability, abnormality and intact plasma membrane were 86,27%, 74,31%, 1676×10^6 sel/mL, 87,68%, 11,90% and 91,10%, respectively. Progressive motility, viability, abnormality and intact plasma membrane of the sperms after dilution (P2) were significantly ($P < 0.05$) lower than P0 and P1. In addition, progressive motility, viability, abnormality and intact plasma membrane of the sperms after freezing (post thawing) in the P0 did not differ significantly ($P > 0.05$) compared to P1. It can be concluded that egg yolk powder can be used as an alternative to replace fresh egg yolk as a part of semen extender.

Key words : Quality of sperms, fresh egg yolk, egg yolk powder, Bali bull

KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Allah SWT. Atas rahmat dan hidayah-Nya, penulis dapat menyelesaikan makalah tesis yang berjudul “**Pengaruh Tepung Kuning Telur Sebagai Pengencer Alternatif Terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Bali**”. Melalui kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dan membimbing penulis dalam menyelesaikan makalah ini utamanya kepada:

1. Bapak **Prof. Ir. Muhammad Yusuf, S.Pt., Ph.D., IPU** dan Bapak **Dr. Ir. Zulharnaim, S.Pt., M.Si., IPM** selaku pembimbing yang telah mengarahkan penulis dalam penyusunan makalah ini.
2. Kedua orang tua bapak **Suardi (Alm.)** dan ibu **Nurhudaya** yang senantiasa mencintai, mendoakan, menjadi motivasi, dan mendidik penulis.
3. Bapak **Prof. Dr. Ir. Herry Sonjaya, DEA, DES**; Bapak **Prof. Dr. Ir. Lellah Rahim, M. Sc, IPU, ASEAN Eng** dan Bapak **Dr. Hasbi, S. Pt, M. Si** selaku penguji yang telah memberikan masukan dan arahan dalam proses perbaikan makalah ini.
4. Bapak **Prof. Dr. Ir. Ambo Ako, M. Sc**, selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu dan Teknologi Peternakan Universitas Hasanuddin.
5. Bapak **Dr. Syahdar Baba, S. Pt., M. Si** selaku Dekan Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin, beserta jajarannya. Kepada Dosen pengajar Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin.
6. Teman-teman dari Mahasiswa **S2 ITP angkatan 2021, Mortal Combat dan teman angkatan 2016** yang telah memberikan bantuan semangat

serta semua pihak yang turut andil hingga terselesaikannya makalah ini, penulis ucapkan terima kasih.

7. Last but not least, i wanna thank me, i wanna thank me for believing in me, i wanna thank me for doing all this hard work, i wanna thank me for having no days off, i wanna thank me for, for never quitting, i wanna thank me for always being a giver And tryna give more than i recieve, i wanna thank me for tryna do more right than wrong, i wanna thank me for just being me at all times

Penulis menyadari bahwa penyusunan makalah ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu kritikan dan masukan dari pembaca sangat bermanfaat bagi penulisan kedepannya. Semoga makalah ini bermanfaat baik bagi penulis maupun pembaca.

Makassar, November 2023

Dina Ardiana

DAFTAR ISI

	Halaman
PERNYATAAN KEASLIAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
BAB I	1
PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II	4
TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Karakteristik kuning telur	4
B. Karakteristik bahan pengencer semen	6
C. Kualitas spermatozoa	7
D. Kelayakan bahan pengencer terhadap kualitas spermatozoa	13
E. Kerangka Pemikiran	17
F. Hipotesis	17
BAB III	18
METODE PENELITIAN	18
A. Waktu dan Tempat Penelitian	18
B. Materi Penelitian	18
C. Rancangan Penelitian	19

D. Prosedur Penelitian	20
Pembuatan tepung kuning telur	21
Penyiapan pengencer semen	23
Penampungan semen	23
Evaluasi semen	23
Pengenceran semen	27
Pembuatan semen beku	27
E. Parameter yang Diukur	28
F. Analisis Data	28
BAB IV	30
HASIL DAN PEMBAHASAN	30
A. Kualitas Semen Segar Sapi Bali	30
B. Pengaruh Pengencer Tepung Kuning Telur Terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Bali	33
Motilitas Progresif Spermatozoa Sapi Bali pada Pengencer Kuning Telur yang Berbeda (Setelah Pengenceran)	34
Viabilitas Spermatozoa Sapi Bali pada Pengencer Kuning Telur yang Berbeda (Setelah Pengenceran)	36
Abnormalitas Spermatozoa Sapi Bali pada Pengencer Kuning Telur yang Berbeda (Setelah Pengenceran)	38
Membran Plasma Utuh Spermatozoa Sapi Bali pada Pengencer Kuning Telur yang Berbeda (Setelah Pengenceran)	40
C. Pengaruh Pengencer Tepung Kuning Telur Terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Bali setelah Pembekuan (Post Thawing)	42
BAB V	46
KESIMPULAN DAN SARAN	46
A. KESIMPULAN	46
B. SARAN	46
DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN	56

DAFTAR TABEL

Nomor	halaman
1. Kandungan gizi ayam kampung dan ayam ras	4
2. Standar Evaluasi Secara Makroskopis Semen Segar Sapi	8
3. Kualitas Semen Segar Sapi Bali	30

DAFTAR GAMBAR

Nomor	halaman
1. HOST positif pada spermatozoa	13
2. Kerangka pemikiran	17
3. Diagram alir pengolahan telur utuh menjadi tepung kuning telur	20
4. Proses penggunaan pengencer tepung kuning telur	22
5. Rerata Motilitas Progresif Spermatozoa Sapi Bali Setelah Pengenceran	34
6. Rerata Viabilitas Spermatozoa Sapi Bali Setelah Pengenceran	36
7. Rerata Abnormalitas Spermatozoa Sapi Bali Setelah Pengenceran	38
8. Rerata Membran Plasma Utuh Spermatozoa Sapi Bali Setelah Pengenceran	40
9. Grafik pengaruh tepung kuning telur terhadap kualitas permatozoa sapi Bali setelah pembekuan (post thawing)	42

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Pengencer Tris Kuning Telur (TKT) merupakan jenis pengencer yang sering digunakan untuk semen sapi. Pengencer tris memiliki sifat *buffer* yang baik. Kandungan glukosa digunakan sebagai bahan sumber energi dan kandungan kuning telur merupakan sumber asam amino bagi spermatozoa. Komponen kuning telur yang bertanggung jawab terhadap efek krioprotektan adalah lesitin, fosfolipid, dan fraksi lipoprotein (Ariantje dkk., 2021; Vishwanath dan Shannon, 2000; Aboagla dan Terada, 2004). Pengencer TKT, selain cukup ekonomis, bahan untuk membuat TKT juga mudah didapatkan. Namun penggunaan pengencer TKT juga menjadi masalah apabila larutan *buffer* telah dicampurkan dengan kuning telur segar pada saat akan digunakan, kuning telur segar sebagai bahan pengencer tidak tahan lama dan kuning telur segar yang tidak dapat disimpan lebih dari 24 jam karena dapat menjadi toksik sehingga bersifat racun bagi spermatozoa yang ada pada semen.

Kondisi spermatozoa yang mudah mengalami kerusakan pada saat perlakuan maupun rendahnya kualitas semen yang diperoleh pasca thawing membutuhkan pengencer yang dapat mempertahankan kualitas selama penyimpanan. Pengencer semen digunakan untuk memperbanyak volume, memberikan nutrisi, melindungi sel sperma selama proses pengolahan, penyedia *buffer* dan melindungi sperma dari bakteri. Berbagai komponen semen yang menyatu dalam medium yang sempurna

diperlukan agar semen dapat mempertahankan sifat alaminya dan dapat memperpanjang umur dari proses awal hingga proses pembekuan dan pasca pencairan (Chung dkk., 2019; Sawitri dkk., 2021). Kuning telur berperan sebagai pengencer sperma seperti sumber energi, penyangga tekanan osmotik dan krioprotektan ekstraseluler yang dapat melapisi membran plasma untuk melindungi sperma dari *cold shock* dan menjaga stabilitas membran plasma selama penyimpanan semen (Moussa dkk., 2002). Masalah umum dalam penyediaan pengencer adalah pengencer komersial harganya cukup mahal dan sulit didapatkan.

Kuning telur segar yang telah diolah menjadi tepung kuning telur menggunakan pengeringan beku telah dilakukan oleh (Alcay dkk., 2016; Ariantie dkk., 2021) bahwa Tris-tepung kuning telur dapat mempertahankan kualitas spermatozoa hingga persentase motilitas 50 % lebih lama dibandingkan tris-kuning telur segar. Namun penggunaan metode pengeringan beku membutuhkan waktu yang lama dan membutuhkan biaya yang relatif mahal.

Salah satu upaya yang dilakukan untuk membuat tepung kuning telur melalui proses pasteurisasi menggunakan oven mampu menjaga kualitas hasil pengeringan dalam waktu yang lama dan perlindungan terhadap pertumbuhan mikroba (aktivitas air rendah) (Wulandari dan Arief., 2022). Metode ini memberikan solusi yang menghasilkan tepung kuning telur baik kualitas dan strukturnya, sehingga tidak mengubah aroma, warna dan unsur organoleptik lainnya. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk membuat, membuktikan dan membandingkan tepung

kuning telur (oven), dengan kuning telur segar dan tepung kuning telur komersial terhadap kualitas spermatozoa sapi Bali.

B. Rumusan Masalah

1. Penggunaan kuning telur segar sebagai pengencer memiliki kelemahan dengan daya simpan yang tidak tahan lama, serta dapat menjadi toksik bagi spermatozoa.
2. Mahalnya pengencer komersial dan sulit untuk didapatkan sehingga dibutuhkan pengencer alternatif lain.

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan menghasilkan pengencer alternatif berbahan baku tepung kuning telur yang efisien digunakan dalam mempertahankan kualitas spermatozoa sapi Bali.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini sebagai bahan informasi ilmiah khususnya bagi lembaga penelitian untuk mengetahui alternatif pengganti kuning telur segar menjadi tepung kuning telur sebagai pengencer semen dalam menjaga dan mempertahankan kualitas spermatozoa sapi Bali.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Karakteristik Kuning Telur

Telur memiliki sekitar 30% bagian kuning telur dari berat telur. Kuning telur memiliki kandungan nutrisi lebih lengkap dibanding putih telur. Kuning telur mengandung kolesterol, asam lemak esensial (umumnya berupa asam lemak tidak jenuh), dan vitamin-vitamin yang larut dalam lemak (vitamin A, D, E, dan K) (Sparks, 2006). Kuning telur mengandung asam-asam amino, karbohidrat, vitamin dan mineral untuk kebutuhan hidup spermatozoa (Hoesni, 2016).

Kandungan gizi telur ayam kampung dan ayam ras dapat dilihat pada Tabel berikut.

Tabel 1. Kandungan Gizi Ayam Kampung dan Ayam Ras

Kuning Telur	Telur Ayam Kampung	Telur Ayam Ras
Kadar Air (g/100g)	48.13	50.33
Kadar Abu (g/100g)	1.84	1.52
Kadar Lemak (g/100g)	30.08	31.06
Kadar Protein (g/100g)	17.12	15.32
Karbohidrat (g/100g)	2.83	1.77
Energi (kkal/100g)	350	348

Sumber : Wulandari (2018).

Kuning telur mengandung lesitin dan lipoprotein. Lesitin dan lipoprotein merupakan protein yang akan menyelubungi spermatozoa sehingga dapat mengurangi *cold shock* pada waktu pembekuan. Lipoprotein kuning telur terdiri atas 85% lemak dan 15% protein, lemak

dari lipoprotein terdiri atas 20% fosfolipid (lecitin, fosfaatidil serin), 60% lemak netral (trigeliserida) dan 50% kolesterol. Lipoprotein akan melindungi sperma dari luar sel yaitu dengan jalan meletakkan diri pada membran plasma sperma sehingga sperma terbungkus oleh lipoprotein (Hoesni, 2016).

Komponen utama di dalam kuning telur adalah lipoprotein yang mempunyai daya tarik menarik dengan membran plasma sperma (Permatasari dkk., 2013). Kuning telur juga mengandung glukosa, yang lebih baik digunakan oleh spermatozoa sapi untuk metabolismenya, berbagai protein, vitamin-vitamin yang larut dalam air maupun yang larut dalam minyak, dan memiliki viskositas yang mungkin menguntungkan spermatozoa. Kuning telur mengandung asam-asam amino L-tyrosin, L-tryptohan, dan L-phenilalanin yang menghasilkan hydrogen peroksida pada deaminasi oksidatif (Susilawati, 2011).

Kuning telur segar yang diolah menjadi tepung kuning telur telah digunakan untuk mengencerkan semen domba, kambing, dan sapi (Ansari dkk., 2010; Alcay dkk., 2015; Alcay dkk., 2016; Garcia dkk., 2018). Tepung kuning telur memiliki kelebihan mampu menjaga kualitas hasil pengeringan dalam waktu yang lama, lebih praktis sehingga siap digunakan tanpa harus memecahkan telur segar untuk kuning telur secara manual, tersedia setiap saat dan sangat cocok untuk biomolekul protein, seperti kuning telur (Alcay *et al.*, 2015).

B. Karakteristik Bahan Pengencer Semen

Bahan pengencer harus mengandung sumber nutrisi, *buffer*, bahan anti *cold shock*, antibiotik, dan krioprotektan yang dapat melindungi spermatozoa selama proses pembekuan dan thawing. Sumber nutrisi yang paling banyak digunakan adalah karbohidrat terutama fruktosa yang paling mudah dimetabolisasi oleh spermatozoa. Bahan anti *cold shock* yang umum ditambahkan adalah kuning telur, yang dapat melindungi spermatozoa pada saat perubahan suhu dari suhu ruang (28°C) pada saat pengolahan ke suhu ekuilibrase (5°C) (Aboagla dan Terada, 2004).

Terdapat beberapa jenis pengencer yang dapat digunakan, seperti tris kuning telur dan andromed®, kedua pengencer tersebut memiliki kandungan dan fungsi yang berbeda-beda. Pengencer tris kuning telur memiliki kandungan kuning telur yang dapat dijadikan sebagai bahan pengencer semen, karena selain harganya murah dan mudah didapat, kuning telur juga mempunyai banyak kandungan nutrisi, diantaranya protein, vitamin, mineral dan lemak, merupakan komponen yang terdapat dalam semen dan dibutuhkan spermatozoa. Kuning telur memiliki kandungan lipoprotein dan lesitin sehingga dapat berfungsi dalam mempertahankan dan melindungi integritas selubung lipoprotein spermatozoa (Astrini dkk., 2016).

Pengencer Tris kuning telur memiliki bahan atau zat yang diperlukan oleh spermatozoa yang merupakan sumber makanan bagi selnya, antara lain fruktosa, laktosa, rafinosa, asam-asam amino dan vitamin dalam kuning telur sehingga spermatozoa dapat memperoleh

sumber energi dalam jumlah yang cukup. Kuning telur merupakan krioprotektan ekstraseluler mengandung lipoprotein dan lesitin yang melindungi membran sel spermatozoa untuk mencegah terjadinya *cold shock* selama pendinginan pada suhu 5°C (Ducha dkk., 2012).

Komposisi andromed® sendiri terdiri dari aquabides, fruktosa, gliserol, asam sitrat, Tris hydroxy-aminomethane sebagai *buffer*, gula sebagai sumber energi, gliserol sebagai krioprotektan dan antibiotik untuk mencegah pertumbuhan bakteri. Andromed® sebagai pengencer, mengandung protein, karbohidrat, mineral (natrium, kalsium, kalium, magnesium, klorida, fosfor, dan mangan), asam sitrat, gliserol, lemak, lesitin, dan glyceryl phosphoryl choline (GPC) (Aku, 2005; Juniandri dkk., 2014; Susilawati, 2011).

C. Kualitas Spermatozoa

Keberhasilan Inseminasi Buatan (IB), semen harus diproduksi dalam jumlah dan kualitas yang tinggi. Pemeriksaan dan evaluasi meliputi keadaan umum contoh semen, volume, konsentrasi dan motilitas atau daya geraknya. Observasi ini perlu untuk penentuan kualitas semen dan daya reproduksi pejantan (Toelihere, 1993). Salisbury dan Van Demark (1985) menyatakan bahwa kriteria mengenai penilaian semen bertujuan untuk mendapatkan suatu cara pendugaan tidak langsung mengenai potensi semen untuk memperlihatkan fungsi fertilisasinya.

Pemeriksaan dan evaluasi semen penting dilakukan untuk menentukan kualitas semen dan daya reproduksi pejantan, khususnya untuk menentukan kadar pengencer, karakteristik semen dapat

digunakan sebagai indikator dari fertilitas (Toelihere, 1993).

Kualitas semen sapi dapat dievaluasi melalui parameter makroskopis maupun mikroskopis.

1. Makroskopis

Parameter makroskopis terdiri atas volume, warna, bau, konsistensi, dan pH semen. Parameter makroskopis penting untuk dievaluasi karena dapat dijadikan sebagai indikator awal untuk mengetahui adanya ketidaknormalan pada semen. Semen yang tidak normal secara makroskopis, dapat mengindikasikan terdapatnya kerusakan ataupun infeksi bakteri pada sistem reproduksi (Agarwal & Said, 2011).

Standar evaluasi semen sapi secara makroskopis dapat dilihat pada Tabel 2 berikut ini:

Tabel 2. Standar Evaluasi Secara Makroskopis Semen Segar Sapi

Parameter	Nilai atau Kategori
Volume	5-10 ml*
Warna	Putih susu sampai krem
Bau	khas*
Konsistensi	Encer/sedang/kental*
pH	6,2 - 7,00**

*(Purwasih dkk., 2013), ** (Wahyuningsih dkk., 2013)

2. Mikroskopis

Parameter mikroskopis untuk mengevaluasi kualitas semen meliputi gerakan massa, konsentrasi, motilitas, viabilitas, dan membran plasma utuh (MPU). Gerakan massa spermatozoa merupakan pergerakan sekumpulan spermatozoa pada semen segar yang membentuk

gelombang seperti gerakan awan. Gerakan massa dapat dinilai ke dalam tiga kategori yaitu cukup, baik, dan sangat baik. Pemeriksaan gerakan massa spermatozoa membantu untuk memprediksi kualitas semen (Tambing dkk., 2000).

Konsentrasi semen yaitu jumlah spermatozoa yang terkandung dalam satu ml ejakulasi. Penilaian konsentrasi sangat penting karena digunakan untuk menentukan jumlah pengenceran semen. Hasil temuan Garner dan Hafez (2008) yang menyatakan bahwa konsentrasi semen sapi bervariasi dari 1.000-1.800 juta/ml. konsentrasi spermatozoa akan mengikuti perkembangan seksual dan kedewasaan, kualitas pakan yang diberikan, kesehatan alat reproduksi, besar testis, umur dan frekuensi ejakulasi pejantan (Salisbury dan Van Demark., 1985).

Parameter mikroskopis utama untuk mengevaluasi kualitas semen ialah motilitas dan viabilitas. Penilaian motilitas dan viabilitas penting dilakukan untuk mengetahui keberhasilan kriopreservasi. Hal tersebut dikarenakan motilitas dan viabilitas spermatozoa berkaitan dengan kemampuan spermatozoa dalam membuahi sel ovum (Chian dan Quinn, 2010).

Motilitas merupakan kemampuan spermatozoa untuk bergerak bebas. Penilaian motilitas spermatozoa dapat dilakukan dengan menghitung persentase spermatozoa yang bergerak (motil) pada kamar hitung (Algarubi, 2014). Analisis viabilitas spermatozoa dilakukan untuk mengetahui persentase spermatozoa yang hidup. Penilaian viabilitas spermatozoa dilakukan dengan menggunakan pewarnaan diferensial

yang berkaitan pada integritas membran sel. Sel spermatozoa yang hidup dan mati akan menunjukkan reaksi yang berbeda terhadap zat pewarna tertentu, sehingga keduanya dapat dibedakan dan persentase sel spermatozoa yang hidup dapat dihitung (Rurangwa dkk., 2004).

Pewarna diferensial yang umum digunakan untuk mengamati viabilitas spermatozoa ialah eosin (Budai dkk., 2014). Spermatozoa mati memiliki membran plasma yang rusak sehingga dapat menyerap warna eosin. Sebaliknya spermatozoa yang hidup tidak dapat menyerap warna merah dari eosin karena membran plasmanya tidak rusak dan dapat mempertahankan integritasnya. Oleh karena itu ketika diamati di bawah mikroskop, spermatozoa yang mati tampak berwarna merah dan spermatozoa yang hidup tampak berwarna putih (Legato, 2004).

Morfologi spermatozoa dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor termasuk susunan genetik, tahapan fisiologis hewan, nutrisi, musim, faktor iklim serta penyakit (Chauhan dkk., 2017). Kelainan fisik spermatozoa pada saat pembentukan spermatozoa dalam tubuli seminiferi maupun karena proses di dalam saluran reproduksi jantan disebut abnormalitas spermatozoa. Spermatozoa yang abnormal secara morfologi baik abnormalitas primer atau sekunder tidak dapat membuahi ovum. Berdasarkan standar dari Menteri Pertanian Republik Indonesia No. 10/Permentan/PK.210/3/2016 dimana semen beku yang diproduksi dan diedarkan harus memiliki abnormalitas $\leq 20\%$, jika melewati 30-35% menunjukkan adanya infertilitas (Ardhani dkk., 2020).

Abnormalitas spermatozoa dapat dilihat pada kepala, badan dan ekornya, jumlah spermatozoa abnormal dihitung dari pemeriksaan sekitar seratus sampai dua ratus spermatozoa. Toelihere (1979), kelainan morfologi dibawah 20% masih di anggap normal. Salisbury dan Van Demark (1985) menyatakan bahwa kesuburan sapi jantan tergantung pada proporsi spermatozoa yang abnormal terhadap spermatozoa normal di dalam semen. Sedangkan abnormalitas spermatozoa 20% atau lebih kualitasnya dianggap jelek (Partodihardjo, 1992), spermatozoa yang abnormal kemungkinan tidak subur.

Abnormalitas primer meliputi kepala kecil, kepala besar, kepala miring, kepala kembar, ekor bercabang, leher besar dan melipat. Sedangkan abnormalitas sekunder meliputi ekor terputus, kepala tanpa ekor, bahagian tengah melipat, adanya butiran-butiran proto plasma proksimal atau distal dan akrosomal terlepas (Toelihere, 1993).

Membran plasma memiliki fungsi dalam mengatur proses biokimia di dalam sel. Membran plasma bertanggung jawab dalam regulasi ion kalsium, natrium, dan kalium yang diperlukan dalam aktivitas mitokondria dan motilitas spermatozoa (Khalil dkk., 2018). Membran plasma dan persentase hidup spermatozoa saling terikat satu sama lain. Persentase hidup yang baik salah satunya ditandai oleh keutuhan membran plasma dari spermatozoa. Jika membran plasma mengalami kerusakan maka dapat mengurangi spermatozoa yang hidup. Membran memiliki peran yang sangat penting dan berguna dalam mempertahankan persentase hidup spermatozoa ketika diberikan pengencer. Fungsi dari membran

plasma yang utuh sangat penting dalam proses metabolisme spermatozoa, seleksi nutrisi yang akan masuk ke dalam sel serta reaksi akrosom (Ondho, 2020; Arvioges dkk., 2021). Di sel terdapat proses osmotik yaitu tekanan untuk menyeimbangkan larutan di luar dan dalam sel yang dipisahkan oleh membran sehingga tekanan pada bagian dalam dan luar sel tetap sehingga bentuk sel normal (Ondho, 2020).

Membran plasma utuh (MPU) dilakukan dengan menggunakan *Hypoosmotic Swelling Test*. Prosedur yang digunakan Jayendran dkk. (1984) yaitu menggunakan medium Hos Test berupa NaCl hipotonik (0.031 m; terbuat dari 0.179 g NaCl yang dilarutkan dengan 100 ml akuabides). Sebanyak 0,1 ml semen ditambah dengan 9.9 ml medium HOS Tes, selanjutnya diinkubasi selama satu jam pada suhu 37°C dalam water bath. Semen yang telah diinkubasi dievaluasi dengan menggunakan mikroskop cahaya 40 kali. Jumlah spermatozoa yang di hitung adalah 200 dengan skala 0 sampai 100 persen. Semen akan memperlihatkan perubahan morfologi bila diinkubasi pada medium hipotonik. Spermatozoa yang memiliki membran utuh jika ditempatkan pada media hipoosmotik akan berusaha untuk meningkatkan volume air di dalam selnya agar cairan di dalam dan diluar spermatozoa seimbang. Upaya ini menyebabkan terjadinya penyempitan pada membran yang menutupi ekor sehingga memaksa ekor spermatozoa melingkar di dalam membran spermatozoa. Sehingga jika ekornya menggelembung atau melingkar berarti membran plasmanya utuh (Susilawati, 2011).



Gambar 1. HOST Positif pada Spermatozoa (Almadaly dkk., 2014)

Pengamatan kualitas semen secara mikroskopis dilakukan dengan menggunakan *Computer Assisted Semen Analysis (CASA)*. Penggunaan *CASA* dalam pengujian motilitas spermatozoa dimaksudkan untuk mengatasi subyektifitas penilaian. Penggunaan metode ini didasarkan atas pengembangan digital-image teknologi untuk mendapatkan hasil Analisa spermatozoa yang cepat, akurat, mampu meningkatkan dan menstandarkan pengujian parameter motilitas spermatozoa yang relevan untuk menilai fertilitasnya (Simmet, 2004).

D. Kelayakan Bahan Pengencer Terhadap Kualitas Spermatozoa

Pengencer semen merupakan bahan-bahan yang digunakan untuk mempertahankan dan melindungi spermatozoa selama penyimpanan agar dapat digunakan dalam proses IB. Pengencer yang digunakan harus memiliki syarat-syarat tertentu untuk menjamin proses metabolisme dan respirasi spermatozoa tetap berlangsung dengan baik. Komponen yang harus dimiliki oleh pengencer adalah bersifat isotonik, kemampuan sebagai *buffer* (untuk mengatur pH), melindungi dari *cold shock*, sebagai sumber energi, mampu mengontrol kontaminasi mikroba, memberikan perlindungan selama pembekuan dan thawing serta mempertahankan kesuburan spermatozoa (Raheja dkk., 2018).

Pengencer yang banyak digunakan untuk pembekuan semen dan telah berhasil baik adalah pengencer yang menggunakan penyanggah tris yang dikombinasikan dengan gula monosakarida. TKT memberikan motilitas spermatozoa pasca *thawing* yang lebih tinggi dibandingkan dengan sitrat kuning telur. Tris selain mempunyai sistem penyanggah yang baik juga memiliki toksisitas yang rendah (Situmorang, 2002).

Tris (*Tris hydroxymethyl aminomethane*) merupakan larutan yang mengandung asam sitrat dan fruktosa yang berperan sebagai penyangga (*buffer*), untuk mencegah perubahan pH akibat asam laktat dari hasil metabolisme spermatozoa serta mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit, sumber energi dan melindungi spermatozoa dari kejut dingin (*cold shock*). Selain itu, tris mempunyai kemampuan dalam memberikan motilitas spermatozoa yang lebih tinggi karena tris lebih banyak mengandung zat – zat makanan, antara lain fruktosa, asam sitrat yang dapat dipanaskan sebagai *buffer* dan meningkatkan aktifitas spermatozoa (Hoesni, 1997).

Penggunaan kuning telur dalam pengencer bertujuan sebagai bahan krioprotektan ekstraseluler yaitu krioprotektan dengan molekul-molekul besar, yang tidak dapat menembus membran sel (Supriatna, 1993). Penambahan kuning telur sebesar 20% ke dalam pengencer *tris-sitrat* memberikan presentase motilitas $68.35\% \pm 0.97$ dan kerusakan akrosom $11.70\% \pm 2.26$ (Deka & Rao 1986). Kuning telur terdiri atas 49 % air, protein 16.5%, lemak 32% dan hidrat arang 1%. Lemak kuning telur

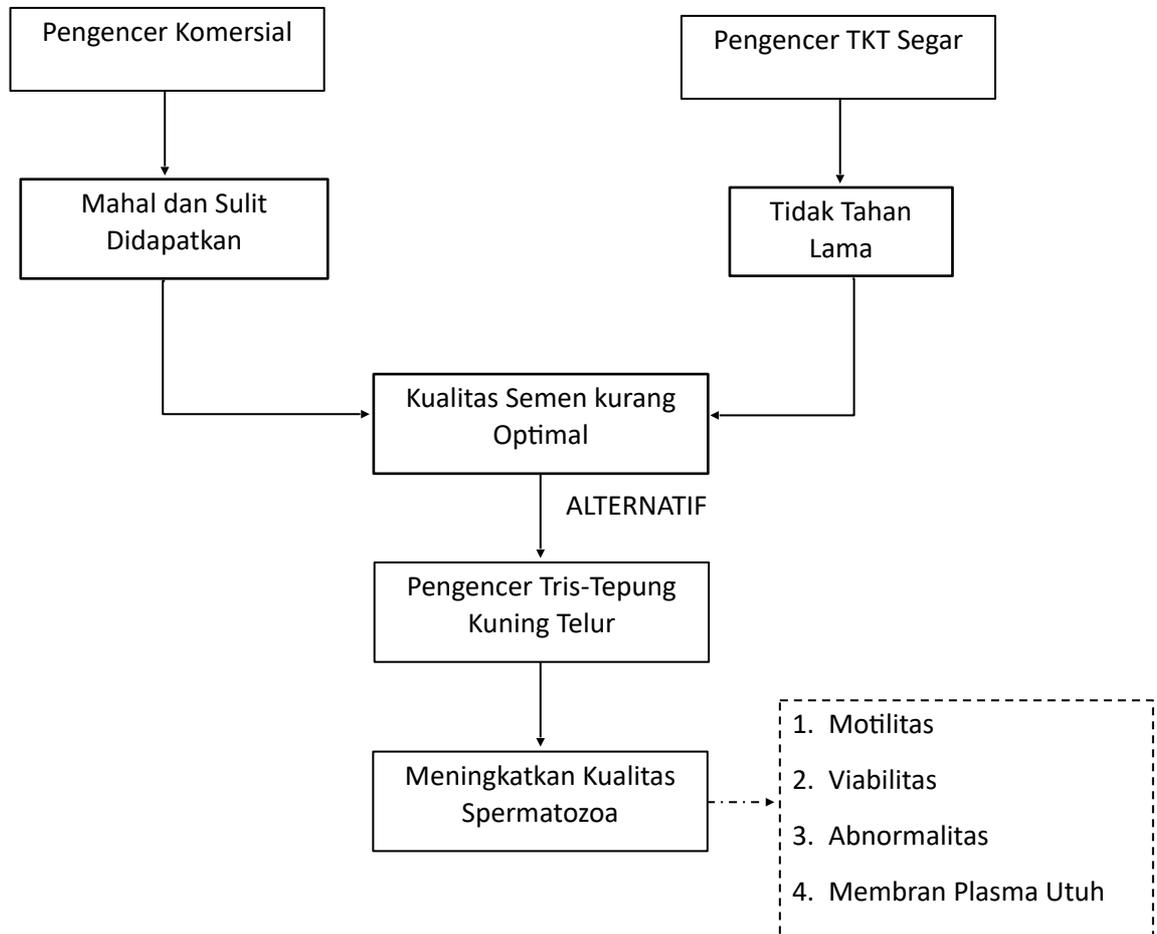
terdiri atas gliserida 62%, phosphatidil cholin 33% dan kolesterol 5%. Phosfolipid terdiri atas lesitin 73% dan cephalin 15% (Sudaryani, 2009).

Pengencer yang berbasis tepung kuning telur yang dilengkapi dengan antioksidan dapat melindungi motilitas, membran plasma, akrosom dan integritas DNA (Alcay dkk., 2016). Komponen kuning telur yang berperan dalam melindungi spermatozoa selama proses pengawetan semen cair antara lain fosfolipid, *low-density lipoprotein* (LDL), dan kolesterol (Moussa dkk., 2002) akan menghasilkan partikel yang stabil. Komponen-komponen tersebut diyakini mampu berasosiasi dengan membran plasma membentuk lapisan pelindung pada permukaan dan mampu menggantikan fosfolipid membran plasma serta menjaga integritas membran plasma (Quinn dkk., 1980).

Penggunaan pengencer tepung kuning telur dengan penambahan antioksidan hasil *post thawing* dapat meningkatkan integritas akrosom 57,90-78,0% (Alcay dkk., 2016). Kualitas semen cair domba garut menggunakan pengencer Tris- tepung kuning telur komersial 20% lebih lama dalam mempertahankan motilitas progresif spermatozoa dengan persentase $53,47 \pm 6,33\%$ selama 180 jam dibandingkan dengan pengencer Tris - kuning telur *freeze dry* 20% dan Tris - kuning telur segar 20% dengan persentase motilitas progresif $51,11 \pm 6,06\%$ dan $51,25 \pm 6,74\%$, masing-masing selama 168 jam dan 156 jam (Ariantie dkk., 2021). Penggunaan tepung kuning telur untuk kriopreservasi Sapi Zebu dan kerbau dilaporkan bahwa semen yang diberi bubuk kuning telur

memiliki motilitas pasca pencairan yang lebih tinggi dibandingkan dengan telur segar (Jimenez dkk., 2004; Ansari dkk., 2010; singh dkk., 2015).

E. Kerangka Pemikiran



Gambar 2. Kerangka Pemikiran

F. Hipotesis

Adapun hipotesis yang telah ditetapkan dalam penelitian ini yaitu:

1. Pengencer tris-tepung kuning telur dapat menjadi alternatif pengganti kuning telur segar terhadap kualitas spermatozoa sapi Bali.
2. Pengencer tris-tepung kuning telur lebih efektif memiliki kemampuan dalam mempertahankan kualitas spermatozoa sapi Bali.