

Pengaruh Konsentrasi dimethyl sulfoxide dalam Pengencer Air Kelapa Muda dan Estrak Daun Kelor Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Bali

(Effect of dimethyl sulfoxide concentration in Coconut Water and Moringa Leaves Extract on the Quality of Frozen Semen of Bali bull)

Fernando Eko Putra Anda, Thomas Mata Hine, Kirenius Uly, W Marlene Nalley

Fakultas Peternakan-Universitas Nusa Cendana Kupang

Email : nandoanda1502@gmail.com

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menguji pengaruh konsentrasi dimethyl sulfoxide (DMSO) dalam pengencer air kelapa kuning telur ekstrak daun kelor (AKKTEDK) terhadap kualitas semen beku sapi bali. Semen ditampung dua kali seminggu menggunakan metode vagina buatan dari satu ekor sapi bali jantan berumur tiga tahun. Semen yang memiliki motilitas >70%, konsentrasi >800x10⁶/ml dan abnormalitas < 15% diencerkan dalam pengencer AKKTEDK dengan konsentrasi DMSO 3, 5, dan 7%. Semen yang sudah diencerkan dikemas dalam ministray 0,25 mL, kemudian diekuilibrasi pada suhu 5 °C selama 4 jam. Semen dibekukan diatas uap nitrogen cair selama 10 menit. Semen beku selanjutnya disimpan pada kontainer nitrogen cair untuk pengujian lebih lanjut. Evaluasi dilakukan pasca-pengenceran, pasca-ekuilibrisasi dan pasca thawing, terhadap motilitas, viabilitas, abnormalitas dan recovery rate spermatozoa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi DMSO tidak memengaruhi kualitas semen pasca-pengenceran dan pasca-ekuilibrisasi (p>0,05). Konsentrasi DMSO 3% menunjukkan motilitas, viabilitas dan *recovery rate* tertinggi (p>0,05) dibandingkan dengan DMSO 5 dan 7%. Kesimpulan dari hasil penelitian ini adalah konsentrasi DMSO terbaik dalam pengencer air kelapa kuning telur ekstrak daun kelor adalah 3% untuk pembekuan semen sapi bali.

Kata kunci: DMSO, kuning telur, kelor, semen, sapi bali

ABSTRACT

The purpose of this study was to examine the effect of *dimethyl sulfoxide* (DMSO) concentration in coconut water egg yolk moringa leaf extract (CWEYMLE) extender on the quality of bali bull frozen semen. Semen were collected twice a week using an artificial vaginal method from three year old bali bull. Semen with >70%, concentration of >800x10⁶/ml and abnormalities <15% were diluted with CWEYMLE extender with three different DMSO concentration, namely 3, 5, and 7%. diluted semen then packed into 0.25 ml ministray and equilibrate at 5 °C for four hours. Semen then freeze above liquid nitrogen vapour for 10 minutes and stored at liquid nitrogen tank for further evaluation. Evaluation was carried out during post dilution, post equilibration and post thawing includes motility, viability, abnormalities and recovery rate of spermatozoa. Results showed no significantly different on the quality of semen post dilution and post equilibration. Post thawing quality demonstrated 3% DMSO were higher (p>0,05). on sperm motility, viability and RR then 5 and 7% DMSO. In conclusion 3% DMSO was the best concentration in coconut water egg yolk moringa leaf extract extender on the quality of bali bull frozen semen.

Keyword : DMSO, coconut, egg yolk, moringa, bali bull, frozen semen

PENDAHULUAN

Salah satu faktor yang mempengaruhi keberhasilan inseminasi buatan (IB) adalah kualitas semen yang digunakan. Terdapat dua jenis semen yang digunakan untuk inseminasi buatan yaitu semen cair dan semen beku. Semen beku memiliki keunggulan yaitu dapat digunakan dalam jangka waktu yang lama, namun memiliki kelemahan yaitu kualitas spermatozoa dapat menurun setelah semen diencerkan karena selama proses pembekuan, spermatozoa melewati berbagai suhu ekstrim

yang dapat menurunkan kualitas spermatozoa (Komariah *et al.*, 2013). Penyimpanan semen pada suhu rendah (umumnya pada suhu 3-5°C dan -196°C) dapat menyebabkan suatu proses yang disebut cekaman dingin (*cold shock*) yang dapat merusak sel dan akan berakibat pada kematian spermatozoa. Untuk meminimalkan kerusakan sel spermatozoa akibat pengaruh buruk suhu rendah tersebut, maka upaya yang dapat dilakukan adalah dengan menambah berbagai zat krioprotektan

ke dalam pengencer semen (Rizal dan Herdis, 2006).

Dimethyl sulfoxide (DMSO) sebagai krioprotektan telah digunakan dalam kriopreservasi organ, jaringan, dan sel. Mandumpal *et al.* (2011) menyatakan DMSO dikenal sebagai larutan yang secara luas digunakan dalam pelestarian jaringan biologi pada kondisi beku dan bersifat koligatif guna menekan titik beku air dan fungsi penting lainnya, yaitu menginisiasi vitrifikasi air untuk mencegah kristalisasi air dan kerusakan selanjutnya yang timbul dari pembentukan es intraselular.

Dimethyl sulfoxide memiliki bobot molekul kecil dan efek toksisitas yang rendah pada saat pembekuan. Mekanisme kerja

DMSO pada pembekuan semen yaitu DMSO menembus masuk ke dalam sel spermatozoa untuk menggantikan air yang terkandung di dalam sel spermatozoa sehingga pada saat pembekuan zat DMSO yang terkandung di dalam sel spermatozoa dapat mencegah terjadinya pembentukan kristal-kristal es.

Penggunaan DMSO dalam penelitian ini sebagai zat krioprotektan dalam pengencer air kelapa, kuning telur dan EDK pada semen beku sapi bali belum banyak dilaporkan. Berdasarkan uraian di atas maka telah dilakukan penelitian dengan judul “Pengaruh konsentrasi *dimethyl sulfoxide* dalam pengencer air kelapa dan EDK terhadap kualitas semen beku sapi bali”

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Yayasan Williams dan Laura di Desa Oelnasi, Kecamatan Kupang Tengah, Kabupaten Kupang selama tiga bulan.

Materi Penelitian

Penelitian menggunakan semen segar yang diperoleh dari 1 ekor ternak sapi Bali jantan dengan umur 3 tahun. Ternak dipelihara dalam kandang individu yang dilengkapi dengan tempat makan dan minum. Pakan hijauan diberikan 10% dari BB, dan penambahan konsentrat sebanyak 700 gram yang terdiri dari dedak, jagung, vitamin, mineral dan air minum diberikan secara *adlibitum*.

Penyiapan Air Kelapa

Air kelapa yang digunakan adalah air dari buah kelapa muda. Kelapa yang sudah dipetik kemudian dipotong bagian atas dan bawah dan diberi lubang kecil pada bagian atas kelapa dengan menggunakan pinset agar bisa diambil air kelapanya.

Penyiapan Kuning Telur

Sebelum telur digunakan terlebih dahulu kerabang telur dibersihkan dengan menggunakan kapas beralkohol 70%. Kemudian Pecahkan telur pada bagian lancip dan pisahkan kuning telur dari putih telur dengan menggunakan kertas saring, setelah itu

kuning telur dituang ke dalam gelas ukur dan siap digunakan.

Pembuatan Ekstrak Daun Kelor

Daun kelor yang digunakan adalah daun kelor yang tua dan segar, dipisahkan dari ranting-rantingnya, dicuci kemudian diangin-anginkan hingga kering dalam ruangan tanpa terkena sinar matahari langsung. Daun kelor yang telah kering dihaluskan menjadi bubuk, kemudian ditimbang dan disesuaikan dengan perlakuan. Ekstrak daun kelor dilarutkan dalam aquabides dengan perbandingan 1:100 yaitu 0,1 gram EDK dilarutkan dalam 10 ml aquabides (Sokunbi. *et al.*, 2015), kemudian dicentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit setelah itu EDK siap digunakan.

Pencampuran Bahan Pengencer Dengan DMSO

Air kelapa, kuning telur dan ekstrak daun kelor dicampur dengan perbandingan 75:20:5, dihomogenkan menggunakan *stirrer*, kemudian dibagi dalam tiga tabung dan ditambahkan DMSO dengan tiga konsentrasi yang berbeda yaitu 3, 5, atau 7 %.

Penampungan Semen

Penampungan semen pada sapi bali menggunakan metode vagina buatan. Alat yang digunakan dalam penampungan semen adalah satu set alat penampungan semen yaitu

1 set vagina buatan, termometer, termos air panas dan tabung penampung semen.

Evaluasi Semen

Semen hasil ejakulasi dievaluasi secara makroskopis meliputi volume, warna, konsistensi, pH dan secara mikroskopis yang meliputi motilitas, viabilitas, konsentrasi, abnormalitas dan gerakan massa. Semen yang memiliki motilitas >70%, konsentrasi >800x10⁶ sel/mL dan abnormalitas <15% (Johnson *et al.*, 2000) dibagi dalam 3 perlakuan.

Pengenceran dan Ekuilibrasi Semen

Semen yang layak digunakan dengan konsentrasi 25 juta spermatozoa diencerkan dengan bahan pengencer yang telah disiapkan sesuai dengan masing-masing perlakuan, setelah pengenceran dilakukan evaluasi terhadap : motilitas, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa. Kemudian semen dievaluasi terhadap motilitas, viabilitas dan abnormalitas. Semen yang memiliki motilitas di atas 65% dikemas di dalam straw mini (0,25 ml) dengan konsentrasi 25 juta spermatozoa lalu disimpan pada suhu 3-5°C selama 24 jam. Setelah ekuilibrasi dilakukan evaluasi kembali terhadap : motilitas, viabilitas dan abnormalitas.

Pembekuan, Penyimpanan Semen dan Thawing

Semen yang telah dievaluasi kemudian dilanjutkan dengan pembekuan semen yaitu dengan cara meletakkan straw 10 cm di atas permukaan nitrogen cair di dalam styrofoam yang ditutup rapat (suhu sekitar -130°C)

selama 10 menit. Selanjutnya straw dimasukkan ke dalam nitrogen cair (suhu sekitar -196 °C) dan disimpan di dalam kontainer nitrogen cair. Setelah disimpan selama 2 jam, setiap sample straw masing-masing perlakuan dicairkan kembali (*thawing*). Semen beku dicairkan kembali dengan cara memasukkan straw ke dalam air bersuhu 37 °C selama 30 detik (Utomo, 2010). Selanjutnya semen dievaluasi terhadap : motilitas, viabilitas, abnormalitas.

Rancangan Percobaan dan Variabel Yang Diukur

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari tiga perlakuan dan lima ulangan. Variabel yang diamati adalah :

1. Motilitas spermatozoa (%): persentase spermatozoa yang bergerak progresif pada suatu lapang pandang. Motilitas spermatozoa ditentukan melalui pengamatan spermatozoa di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 40x10. Penilaian terhadap persentase spermatozoa motil adalah spermatozoa yang bergerak progresif ditentukan secara subjektif pada sepuluh lapang pandang yang berbeda. Nilai yang diberikan berkisaran antara 0% dan 100% dengan skala 5% (Arifiantini, 2012).
2. Viabilitas spermatozoa (%): diketahui dengan mengamati preparat hasil pewarnaan differensial (eosin-negrosin) menggunakan mikroskop. Dimana spermatozoa hidup memiliki kepala berwarna putih sedangkan yang mati berwarna merah. (Arifiantini, 2012)

$$\text{Viabilitas} = \frac{\text{Jumlah spermatozoa hidup}}{\text{Total spermatozoa yang terhitung}} \times 100 \%$$

3. Abnormalitas (%): perhitungan dilakukan dengan cara menempatkan preparat hasil pewarnaan differensial di bawah mikroskop menggunakan pembesaran 40x10, dan menghitung sebanyak 200 sel sperma pada sejumlah lapang pandang.

$$\text{Abnormalitas} = \frac{\text{Jumlah spermatozoa abnormal}}{\text{Total spermatozoa yang terhitung}} \times 100 \%$$

4. Recovery Rate : kemampuan pemulihan spermatozoa setelah pembekuan dengan membandingkan presentase sperma motil pada semen segar dengan pasca *thawing* (Gamer dan Hafez, 2000).

$$\text{RR} = \frac{\text{Motilitas spermatozoa setelah thawing}}{\text{Motilitas spermatozoa segar}} \times 100 \%$$

Analisis Data

Data yang diperoleh dihitung rata-rata dan standard deviasi dan dianalisis dengan

analysis of variance (ANOVA) dan menggunakan software SPSS 19.0 for windows dan MS office Excell 2010 dilanjutkan dengan Uji Duncan. Analisis

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kualitas Semen Segar

Semen segar yang digunakan dalam penelitian mempunyai kualitas baik dan berada pada kisaran normal (Tabel 1).

Tabel 1. Karakteristik semen segar

Karakteristik semen	Kisaran	Rerata
Makroskopis		
Volume (mL)	2,5 – 4,0 mL	3,20 mL
Warna		krem
Konsistensi		Sedang
pH	6,40	6,40
Mikroskopis		
Gerakan massa		++
Konsentrasi (10^6 sel/mL)	903 – 1.423	1,123
Motilitas (%)	75 - 80	77 %
Viabilitas (%)	80,57 – 85,90	82,45 %
Abnormalitas (%)	4,07 – 5,90	5,51 %

Volume semen yang tertampung dapat langsung terbaca pada tabung penampung semen yang berskala. Menurut Toelihere (1993) volume semen sapi yaitu 1-15 mL. Kisaran volume semen pada hasil penelitian ini sebesar 2,5 – 4,0 mL berada pada rerata 3,20 mL yang diperoleh setelah ejakulasi. Volume semen sapi yang diperoleh sedikit lebih rendah dibandingkan dengan hasil penelitian Salmah (2014) yaitu $5,26 \pm 0,99$ mL dan Ratnawati *dkk* (2008) sebanyak $4,5 \pm 2,3$ mL. Toelihere (1993) menyatakan bahwa volume semen yang dihasilkan seekor pejantan sapi dalam satu ejakulasi cukup bervariasi dan sangat tergantung dari umur, berat badan, status kesehatan, reproduksi, kualitas makanan, frekuensi penampungan dan bangsa sapi.

Warna semen diamati secara langsung saat penampungan spermatozoa dilakukan. Warna dan bau semen menentukan kualitas fisik dari semen yang ditampung. Tabel 1 menunjukkan bahwa hasil warna semen sapi bali dalam penelitian ini adalah krem. Feradis (2010) menyatakan bahwa semen sapi normal berwarna seperti susu atau krem keputihan dan keruh.

Konsistensi atau derajat kekentalan dapat diketahui dengan cara menggoyangkan tabung yang berisi semen secara perlahan-lahan sambil melihat gerakan permukaan semen di dalam tabung. Jika pergeseran semen

dalam tabung gerakannya lambat maka dapat diartikan bahwa semen memiliki konsistensi kental, sedangkan jika gerakannya cepat maka dapat diartikan bahwa semen memiliki konsistensi encer. Konsistensi semen sapi bali dalam penelitian ini adalah sedang. Aereus *dkk*. (2012) menyatakan bahwa hasil pemeriksaan terhadap konsistensi semen segar bervariasi antar bangsa. Derajat keasaman (pH) semen dapat diketahui dengan cara meneteskan semen diatas kertas indikator pH berskala 1-14. Perubahan warna pada kertas pH tersebut disesuaikan dengan standar warna pada kertas indikator pH. Rataan pH semen segar sapi bali dalam penelitian ini adalah 6,4. Feradis (2010) menyatakan bahwa setiap bangsa sapi mempunyai nilai pH semen segar yang berbeda-beda. Menurut Gardner dan Hafez (2000) semen segar mempunyai pH yang normal antara 6,4 - 7,8.

Gerak spermatozoa dikategorikan dalam 3 golongan, yaitu pergerakan masa spermatozoa menyerupai awan tebal dan bergerak cepat (+++), pergerakan massa spermatozoa menyerupai awan tebal dan bergerak agak lambat (++) dan pergerakan massa spermatozoa menyerupai awan tipis dan bergerak lambat (+) (Toelihere, 1985). Gerakan massa dalam penelitian ini adalah (++) (Tabel 4.2). Evans dan Maxwell (1987) mengatakan bahwa gerakan massa yang normal harus terletak antara baik (++) sampai

sangat baik (+++).

Konsentrasi adalah jumlah sel spermatozoa per milliliter spermatozoa. Konsentrasi spermatozoa dalam penelitian ini adalah 1,123 sel/ml.

Persentase motilitas menentukan kualitas spermatozoa dengan melihat besar persentase pergerakan spermatozoa secara individu. Rataan persentase motilitas semen segar sapi bali dalam penelitian ini adalah 77%. Susilawati (2011) mengatakan bahwa motilitas semen segar sapi berkisar antara 70-90%. Angka motilitas semen segar sapi bali dalam penelitian ini tinggi (progresif) yang menunjukkan bahwa semen segar sapi bali yang digunakan dalam penelitian ini memiliki kualitas yang bagus.

Viabilitas adalah daya hidup spermatozoa sebagai indikator kualitas spermatozoa (Sukmawati *dkk.*, 2014). Rataan persentase viabilitas semen segar sapi bali dalam penelitian ini adalah 82,45 % . Garner

dan Hafez (2000) mengatakan bahwa viabilitas spermatozoa untuk pembuatan semen yang diencerkan atau semen beku minimal memiliki 60 – 75% spermatozoa hidup.

Persentase spermatozoa abnormal yang diperoleh dalam penelitian ini rata-rata 5,51 %. Semen yang berkualitas baik memiliki maksimal 15% spermatozoa abnormal (Campbell *et al.*, 2003). Sedangkan Garner dan Hafez (2000) menyatakan bahwa abnormalitas spermatozoa tidak boleh melebihi 20%.

Evaluasi Kualitas Spermatozoa Sapi Bali Pasca Pengenceran

Dalam penelitian ini, penilaian kualitas spermatozoa sapi bali pasca pengenceran meliputi persentase motilitas, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa yang dapat dilihat pada Tabel 2 dibawah ini

Tabel 2. Rataan kualitas spermatozoa pasca pengenceran

Perlakuan DMSO	Motilitas	Viabilitas	Abnormalitas
3	79,00 ± 5,48 ^a	82,83 ± 5,65 ^a	5,78 ± 0,74 ^a
5	79,00 ± 5,48 ^a	82,83 ± 5,65 ^a	5,78 ± 0,74 ^a
7	79,00 ± 5,48 ^a	82,83 ± 5,65 ^a	5,78 ± 0,74 ^a

Superskrip yang sama pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ($P>0,05$).

Hasil analisis statistik terhadap kualitas spermatozoa pasca pengenceran yang meliputi motilitas, viabilitas, abnormalitas spermatozoa sapi bali pada perlakuan persentase DMSO 3, 5, 7 menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang nyata ($P>0,05$) antara perlakuan. Hasil ini mengindikasikan bahwa konsentrasi DMSO tidak mengubah kondisi fisiologis pengencer, sehingga masih cocok dengan kondisi fisiologis spermatozoa sapi bali. Kondisi ini sesuai dengan yang dilaporkan Aku *et al.*, (2005) bahwa setelah pengenceran tidak ada perubahan yang nyata pada kualitas spermatozoa sapi bali. Motilitas spermatozoa adalah gerakan maju kedepan dari spermatozoa secara progresif (Solihati dan Kune, 2009). Motilitas spermatozoa yang diperoleh dalam penelitian ini adalah $79,00 \pm 5,48^a$ dari masing-masing perlakuan dengan konsentrasi DMSO yang berbeda.

Viabilitas adalah daya hidup spermatozoa sebagai indikator kualitas spermatozoa (Sukmawati *dkk.*, 2014).

Spermatozoa yang hidup memiliki kepala berwarna transparan, sebaliknya pada spermatozoa yang mati menunjukkan kepala berwarna merah. Spermatozoa yang hidup mempunyai lapisan lipid pada dinding sel sehingga dapat melindungi masuknya zat warna ke dalam spermatozoa. Spermatozoa yang hidup tidak akan terwarnai oleh zat warna sehingga spermatozoa yang hidup biasanya berwarna transparan. Spermatozoa yang telah mati karena rusak atau hilangnya lapisan lipid tersebut, maka zat berwarna sangat mudah menembus masuk ke dalam spermatozoa sehingga akan berwarna merah (Hardjianto *dkk.*, 2008). Persentase viabilitas spermatozoa pada penelitian ini adalah $82,83 \pm 5,65$ dari masing-masing perlakuan dengan konsentrasi DMSO yang berbeda.

Persentase abnormalitas spermatozoa pada penelitian ini didapati sebesar $5,78 \pm 0,74$ dari masing perlakuan dengan konsentrasi DMSO yang berbeda. Pada penelitian ini setiap perlakuan menghasilkan

persentase abnormalitas spermatozoa dalam kisaran normal yaitu kurang dari 20%. Aminsari (2009) menyatakan bahwa abnormalitas spermatozoa lebih dari 20% menunjukkan adanya infertilitas atau ketidaksuburan.

Evaluasi Kualitas Spermatozoa Sapi Bali

Tabel 3. Rataan kualitas spermatozoa pasca ekulibrasi

Perlakuan DMSO	Motilitas	Viabilitas	Abnormalitas
3	79,00 ± 5,48 ^a	82,82 ± 4,79 ^a	6,3 ± 1,11 ^a
5	78,00 ± 6,70 ^a	83,20 ± 4,61 ^a	6,5 ± 1,18 ^a
7	78,00 ± 6,70 ^a	83,12 ± 4,68 ^a	6,7 ± 1,30 ^a

Superskrip yang sama pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ($P>0,05$).

Hasil analisis statistik terhadap kualitas spermatozoa pasca ekulibrasi meliputi motilitas, viabilitas, abnormalitas spermatozoa sapi bali dari ketiga perlakuan menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ($P>0,05$) antara perlakuan.

Persentase motilitas yang didapat selama pasca ekulibrasi berkisar antara 78-79%, hasil tersebut sesuai dengan pendapat Aminasari (2009) yang menyatakan bahwa motilitas semen yang telah didinginkan pada

Evaluasi Kualitas Spermatozoa Sapi Bali Pasca Thawing

Dalam penelitian ini, penilaian kualitas spermatozoa sapi bali pasca thawing meliputi persentase motilitas, viabilitas, abnormalitas spermatozoa dan recovery rate yang dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Rataan kualitas spermatozoa pasca thawing

Perlakuan DMSO	Motilitas	Viabilitas	Abnormalitas	RR
3	36 ± 4,18 ^a	44,15 ± 66,78 ^a	8,84 ± 1,80 ^a	47,60 ± 5,50 ^a
5	18 ± 5,70 ^b	23,64 ± 5,46 ^b	12,05 ± 1,90 ^b	23,60 ± 7,50 ^b
7	7 ± 2,73 ^c	12,62 ± 3,20 ^c	15,72 ± 1,39 ^c	8,80 ± 3,83 ^c

^{a,b,c} Superskrip dengan huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($P<0,05$).

Persentase motilitas pasca thawing adalah pada konsentrasi DMSO 7% memiliki persentase motilitas lebih rendah dibandingkan konsentrasi DMSO 3 dan 5% dan persentase motilitas paling tinggi adalah pada konsentrasi DMSO 3%. Hal ini sejalan dengan pendapat Han *et al* (2005) bahwa konsentrasi krioprotektan pada semen beku tidak boleh terlalu tinggi karena dapat menyebabkan cairan spermatozoa dalam sel mengalami dehidrasi yang berat.

Presentasi viabilitas spermatozoa pada penelitian ini disajikan pada Tabel 4 dari data tersebut terlihat adanya penurunan presentasi viabilitas spermatozoa pasca thawing.

Pasca Ekulibrasi

Dalam penelitian ini, penilaian kualitas spermatozoa sapi bali pasca ekulibrasi meliputi persentase motilitas, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa yang dapat dilihat pada Tabel 3.

suhi 3-5°C tidak boleh berada di bawah 55%. Persentase viabilitas spermatozoa pasca ekulibrasi dalam penelitian ini berkisar antara 82,82-83,20%. Sehingga dapat dikatakan bahwa tidak adanya peningkatan atau penurunan yang signifikan pada masing-masing perlakuan dengan konsentrasi DMSO yang berbeda. Persentase abnormalitas spermatozoa pasca ekulibrasi dalam penelitian ini berkisar antara 6,3-6,7%.

Presentasi viabilitas spermatozoa pada masing-masing perlakuan tidak sama, dimana presentasi viabilitas tertinggi adalah pada konsentrasi DMSO 3% yaitu 44,15 ± 66,78^a, namun belum memenuhi presentasi viabilitas yang baik untuk standar sperma beku dimana menurut Toelhiere (1985) standar sperma beku yang baik yaitu memiliki presentasi viabilitas lebih dari 50%. Sedangkan pada konsentrasi DMSO 5 dan 7% memiliki presentasi viabilitas yang rendah yaitu 23,64 ± 5,46^b dan 12,62 ± 3,20^c. Hal ini disebabkan oleh beberapa faktor yaitu secara alamiah sel akan mengalami kematian yang disebabkan karena stres pada waktu pembekuan.

Rataan presentase abnormalitas spermatozoa menunjukkan bahwa pada penelitian ini setiap perlakuan masih menghasilkan presentasi abnormalitas spermatozoa dalam kisaran yang normal yaitu kurang dari 20%. Hal ini sesuai dengan pendapat Aminasari (2009) yang menyatakan bahwa abnormalitas spermatozoa lebih dari 20% menunjukkan adanya inferlitas atau ketidaksuahan. Kamal *dkk.* (2005) menyataka bahwa abnormalitas spermatozoa lebih dari 20% tidak dapat digunakan untuk inseminasi buatan. Hal ini di pengaruhi oleh kualitas spermatozoa yang di hasilkan oleh sapi yang di pakai pada penilitian ini mempunyai kualitas yang baik dan layak digunakan dalam pembuatan semen beku.

Presntase abnormalitas spermaozoa pada berbagai perlakuan memberikan perbedan yang nyata ($P < 0,05$) pada waktu pengamatan. Jenis abnormalitas yang didapat selama penilitian adalah abnormalitas sekunder, berupa ekor dan kepala terpisah. Ihsan (2011), menyatakan bahwa pembuatan preparat ulas yang kasar dapat menyebabkan kerusakan pada kepala spermatozoa. Susilawati *dkk.* (2016), menambahkan abnormalitas sekunder terjadi pada saat proses pendinginan atau proses pembekuan dan pada saat preparasi membuat preparat.

Recovery rate adalah kemampuan pemuliahan spermatozoa setelah pembekuan dengan membandingkan presentase

spermatozoa motil pada semen segar dengan pasca thawing (Garner dan Hafes, 2000). Rata-rata RR semen sapi bali setiap musim berbeda menurut Hafes (2000), keberhasilan dalam pembekuan semen tidak hanya di nilai dari presentase motilitas individu setelah *thawing*, namun lebih pada presentase spermatozoa yang dapat pulih kembali setelah pembekuan. Nilai RR semen beku sapi bali pada peilitian ini yaitu $47,60 \pm 5,50\%$, ditunjukan pada penambahan DMSO 3%, pada penambahan 5% didapat $23,60 \pm 7,50\%$, dan pada penambahan 7% didapat $8,80 \pm 3,83$. Untuk RR hal ini bisa kita lihat dari standar minimal motilitas individu setelah *thawing* yaitu harus berada pada 40% untuk bisa di lanjutkan dalam proses inseminasi buatan. Kerusakan sel akibat pembekuan dapat terjadi karena dehidrasi, peningkatan konsentrasi elektrolit, serta terbentuknya kristal es intraseluler yang dapat mempengaruhi permeabilitas dinding sel dan pada akhirnya spermatozoa kehilangan daya motilitasnya (Zelpina *dkk.*, 2012). Hilangnya daya motilitas spermatozoa selama proses pembekuan akan berpengaruh terhadap laju pemuliahan RR semen setelah mengalami pencairan kembali (Hafez, 2000). Tingginya nilai RR pada penelitian ini disebabkan oleh tingginya motilitas individu semen segar maupun setelah di *tahwing*, nilai tersebut menyatakan tingginya kemampuan spermatozoa sapi bali dalam beradaptasi dengan lingkungan.

KESIMPULAN

Pengunaan DMSO 3% dalam pengencer air kelapa muda mampu menghasilkan kualitas semen beku sapi bali yang lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi 5 dan 7%.

Meskipun demikian penggunaan DMSO 3% belum mencapai standar nasional semen beku untuk IB.

DAFTAR PUSTAKA

- Aerens CD, MN Ishan dan N Isnaini. 2012. Perbedaan kuantitatif dan kualitatif semen segar pada berbagai bangsa sapi potong. Malang. 1-10.
- Aku S, B Purwantara dan MR Toelihere. 2005. Preservasi semen domba garut dalam berbagai konsentrasi bahan pengencer berbasis lestin nabati, Agriplus, volume 17 No 01:45-47 Ahx RL. 2000. Semen Evaluation. Di dalam : Hafez, E.S.E & B. Hafez, editor. Reproduction in Farm Animal. 7th ed. USA:Lippincot Williams dan Wilkins.
- Aminsari PD. 2009. Pengaruh umur terhadap kualitas semen beku sapi limousin. *Skripsi*. Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Arifiantini I. 2012. Teknik Koleksi dan Evaluasi Semen. IPB Press, Bogor.

- Campbell JR, KL Campbell and MD Kenealy. 2003. Artificial insemination. In: Animal Sciences 4th ed. New York, Mc Graw-Hill.
- Evans GW and MC Maxwell. 1987. Salmons artificial insemination of sheep and goats. Butterworths. London.
- Feradis. 2010. Bioteknologi reproduksi pada ternak. Alfabeta. Bandung
- Garner D L and ESE Hafez. 2000. Spermatozoa and seminal plasma. In : e. S. E. Hfez and b. Hafez (eds). Reproduction in Farm Animals. 7th ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia.
- Hafez ESE. 2000. Semen evaluation in reproduction in farm animals. 7th edition. Lippincott Wiliams and Wilkins. Maryland. USA
- Hardijanto, Sardjito, T Hermawati, T Susilawati dan TW Suprayogi. 2008. Penuntun praktikum fisiologi dan teknologi reproduksi (IB). *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya. P:8-18.
- Ihsan MN. 2011. Penggunaan telur itik sebagai bahan pengencer tris kuning telur dan air kelapa muda pada lama penyimpanan yang berbeda. *Skripsi*. Jurusan Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Halu Oleo. Kendari.
- Johnson LA, KF Weitze, P Fiser, WMC Maxwell. 2000. Storage of boar semen. *J Anim. Sci.* 62: 143-172.
- Kamal, A Gubartallah, A Ahmed, Amel, Bakhiet, A Babiker. 2005. Comparative studies on reproductive performance of nubian and saanen bucks under the climatic conditions of khaortum. *Jurnal of Animal and Veterinary Advances* 4(11):942-944.
- Komariah, L Arifiantini dan FW Nugraha. 2013. Kaji banding kualitas spermatozoa sapi Simmental, Limousin, dan Friesian Holstein terhadap spermatozoa Kambing Boer setelah penyimpanan dingin. *Jurnal S. Pertanian* 3(1) : 347-361 ISSN : 2088-0111.
- Mandumpal JB, CA Kreck, RL Mancera. 2011. *A molecular mechanism of solvent cryoprotection in aqueous DMSO solutions*. Physical Chemistry chemical physics. Pub Med. 13(9):3839-42.
- Ratnawati D, L Affandhy dan Mariyono. 2008. Performa reproduksi sapi perah eks-impor dan lokal pada tiga periode kelahiran di SP2T, KUTT Suka Makmur-Grati, Pasuruan. Semiloka Nasional Prospek Industri Sapi Perah Menuju Perdagangan Bebas – 2020 : 148-152.
- Rizal M, Herdis. 2006. Daya hidup spermatozoa epididimis domba garut yang di kriopreservasi menggunakan modifikasi pengencer tris. *J. Hayati* 12(2) : 61-66.
- Salmah N. 2014. Motilitas, presentase hidup dan abnormalitas spermatozoa semen beku sapi Bali pada pengenceran andromed dan tris kuning telur [*Skripsi*]. Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin. Makassar. Hal 37-38.
- Sokunbi OA, OS Ajani, AA Lawanson and EA Amao. 2015. Antibiotic Potential of Moringa Leaf (*Moringa Oleifera* Lam) Crude Extract in Bull Semen Extender. *European Journal of medicinal Plants*. 9 (2) : 1-8.
- Solihati N dan P Kune. 2009. Pengaruh jenis pengencer terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa semen cair sapi simmental. Universitas Nusa Cendana.
- Sukmawati E, RI Arifiantini, B Purwantara. 2014. Daya tahan spermatozoa terhadap proses pembekuan pada berbagai jenis pejantan unggul. Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor. *JITV*, 19(3):168-175.
- Susilawati T, FE Wahyudi, I Anggraeni, N Isnaini, MN Ihsan. 2016. Penggantian bovine serum albumin pada pengencer cep-2 dengan serum darah sapi dan

- putih telur terhadap kualitas semen cair sapi Limousin selama pendinginan. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 10 (2): 98-102
- Susilawati T. 2011. *Spermatozoatology*. Universitas Brawijaya Press. Malang.
- Toelihere MR. 1993. *Inseminasi Buatan pada Ternak*. Angkasa, Bandung .
- Tolihere MR. 1985. *Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Bandung: Angkasa.
- Utomo S dan E Boquifai. 2010. Pengaruh temperatur dan lama thawing terhadap kualitas spermatozoa sapi dalam penyimpanan straw beku. *Skripsi*. Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian. Universitas Mercu Buana. Yogyakarta. Vol 8(1):22-25
- Yani A, Nuryadi, T Pratiwi. 2001. Pengaruh Tingkat Substitusi Santan Kelapa Pada Pengencer Santan Kelapa Terhadap Kualitas Semen Kambing Peranakan Etawa (PE). *Skripsi*. Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya.
- Zelpina E, B Rosadi dan T Sumarsono.2012. Kualitas Sperma Post Thawing dari Semen Beku Sapi Perah. *Jurnal Ilmu-ilmu Peternakan* Vol. XV No.2:94-102.