



Diterbitkan oleh:
UNDIP Press
Semarang

YON

ISBN 978-670-007-584-9



9 789790 976849

MANFAAT ***INDIGOFERA SP.***

DIBIDANG **REPRODUKSI TERNAK**



SDEPRI ONDHO

**MANFAAT INDIGOFERA SP DIBIDANG REPRODUKSI
TERNAK**

Disusun oleh:
Yon Soepri Ondho



UNDIP Press
Semarang

**MANFAAT INDIGOFERA SP DIBIDANG REPRODUKSI
TERNAK**

Disusun oleh:
Yon Soepri Ondho

ISBN: **978-979-097-684-9**

Hak cipta dilindungi undang-undang.
Dilarang memperbanyak karya tulis ini dalam bentuk dan
dengan cara apapun, tanpa izin tertulis dari penerbit.



Diterbitkan oleh :
UNDIP Press
Semarang

KATA PENGANTAR

Inseminasi Buatan adalah suatu teknologi yang terus berkembang sampai dengan saat ini di Bidang Peternakan. Namun, sampai dengan saat ini perkembangannya masih terkendala dalam beberapa aspek. Salah satunya adalah dalam hal pengencer. Buku monograf ini hadir untuk dapat memberikan jawaban dan solusi untuk melengkapi kesempurnaan teknologi inseminasi buatan.

Di lain pihak, *Indigofera sp.* adalah suatu jenis *leguminosa* yang memiliki potensi besar dengan kandungan nutrisi yang dimilikinya. Kandungan protein, mineral dan antioksidan merupakan suatu potensi besar yang dimiliki indigofera untuk dimanfaatkan sebagai sebuah pengencer semen. Komponen yang dimiliki oleh *Indigofera sp.* ini memenuhi persyaratan sebagai sebuah pengencer semen karena dapat menjadi sumber nutrisi dan menjadi *buffer*.

Buku ini mengupas tuntas tentang *Indigofera sp.* baik potensi dan pemanfaatannya hingga rangkaian teknologi inseminasi buatan mulai dari proses penampungan semen sampai dengan hasil uji kualitas semen penggunaan pengencer *Indigofera sp.* Harapannya buku ini dapat memberikan informasi yang lengkap tentang potensi, manfaat dan aplikasi penggunaan pengencer *Indigofera sp.* sehingga dapat mendukung perkembangan inseminasi buatan.

DAFTAR ISI

Judul	Halaman
KATA PENGANTAR	I
DAFTAR TABEL.....	III
DAFTAR ILUSTRASI.....	IV
BAB I. <i>INDIGOFERA ZOLLINGERIANA</i>	1
BAB II. ORGAN REPRODUKSI TERNAK	3
2.1. Organ Reproduksi Jantan (Organo Genitalia Masculina)	3
2.2. Organ Reproduksi Betina (Organo Genitalia Femimina).....	5
BAB III. INSEMINASI BUATAN PADA TERNAK	7
3.1. Penampungan Semen.....	8
3.2. Penanganan Semen.....	8
3.3. Penyimpanan Semen.....	16
BAB IV. PEMANFAATAN <i>INDIGOFERA SP.</i> DALAM INSEMINASI BUATAN SEBAGAI BAHAN PENGENCER SEMEN	18
BAB V. PROSEDUR PEMBUATAN PENGENCER SEMEN GPR-PRO DENGAN PENAMBAHAN <i>INDIGOFERA SP</i>	21
5.1. Pembuatan Ekstrak <i>Indigofera sp</i>	21
5.2. Prosedur Pembuatan Pengencer Semen GPR-PRO	21
5.3. Pengenceran Semen	23

BAB VI. PENAMPAKAN PENGECER SEMEN GPR-PRO	24
BAB VI. OPTIMASI PENGGUNAAN PENGECER SEMEN GPR-PRO SEBELUM DAN SESUDAH FILTRASI	26
6.1. Motilitas Spermatozoa.....	26
6.2. Viabilitas Spermatozoa	27
6.3. Abnormalitas Spermatozoa.....	28
BAB VII. PENGARUH PENGGUNAAN PENGECER SEMEN GPR-PRO PADA SEMEN KAMBING PERANAKAN ETAWA (PE) PADA BERBAGAI TARAF	30
7.1. Persentase Hidup Spermatozoa.....	30
7.2. Motilitas Spermatozoa.....	31
7.3. Abnormalitas Spermatozoa.....	33
7.4. Viabilitas Spermatozoa	36
7.5. Membran Plasma Utuh Spermatozoa.....	38
7.6. Tudung Akrosom Utuh	38
7.7. Hubungan antara Persentase Hidup dan Membran Plasma Utuh	41
7.8. Hubungan antara Motilitas dan Abnormalitas.....	41
BAB VIII. TINGKAT KEBERHASILAN INSEMINASI BUATAN MENGGUNAKAN PENGECER GPR-PRO	43
DAFTAR PUSTAKA	45
INDEKS	53
GLOSSARIUM	55
TENTANG PENULIS	60

DAFTAR TABEL

Nomor		Halaman
1.	Bahan yang Diperlukan dalam Pembuatan Stock Solution	21
2.	Motilitas Spermatozoa dengan Pengencer GPR-PRO Sebelum dan Sesudah Filtrasi	26
3.	Viabilitas Spermatozoa dengan Pengencer GPR-PRO Sebelum dan Sesudah Filtrasi	27
4.	Abnormalitas Spermatozoa dengan Pengencer GPR-PRO Sebelum dan Sesudah Filtrasi	29
5.	Hasil Pemeriksaan Kebuntingan	43

DAFTAR ILUSTRASI

Nomor		Halaman
1.	<i>Indigofera sp</i>	1
2.	Tudung Akrosom Utuh; Tudung Akrosom Terlepas Sebagian; Tudung Akrosom Terlepas Seluruhnya.....	13
3.	<i>Stock solution</i> dan Ekstrak <i>Indigofera sp</i>	22
4.	Penampakan Pengencer Semen GPR-PRO Sebelum dan Sesudah Difiltrasi.....	24
5.	Abnormalitas Primer; Abnormalitas Sekunder Ekor; Spermatozoa Normal.....	35
6.	Tudung Akrosom Utuh dan Tudung Akrosom Tidak Utuh	40

BAB I

INDIGOFERA ZOLLINGERIANA

Indigofera zollingeriana atau disebut juga Tarum (dalam bahasa Sunda) merupakan tumbuhan dari kelompok leguminosa yang tersebar luas dan cukup terkenal di masyarakat. Ditinjau dari klasifikasi biologi, *Indigofera sp.* termasuk dalam kingdom *Plantae*, divisi *Magnoliophyta*, kelas *Magnoliopsida*, ordo *Fabales*, family *Fabaceae*, Subfamili *Faboideae*, bangsa *Indigofereae*, genus *Indigofera*, spesies *Indigofera zollingeriana*. Ciri-ciri tanaman *Indigofera sp.* adalah berbentuk pohon kecil dengan tinggi mencapai 5 sampai 6 meter, daunnya berseling dan menyirip dengan ukuran 3-25 cm, memiliki bunga kecil yang tersusun dalam suatu tandan di ketiak daun berbentuk raceme dengan ukuran panjang 2-15 cm. *Indigofera sp.* memiliki percabangan yang banyak dengan daun berbentuk oval, bunga dominan berwarna merah muda atau marun dengan sebagian berwarna putih kekuningan. Polong *Indigofera sp.* berukuran 1,5-4 cm, yang berisi 6-8 biji, berwarna hijau disaat muda dan coklat pada saat matang. Selain itu, *Indigofera sp.* dapat dikembangkan di wilayah beriklim kering (Ilustrasi 1).



Ilustrasi 1. *Indigofera sp.*

Indigofera sp. mempunyai banyak manfaat salah satunya sebagai pakan hijauan ternak. Sebagai pakan hijauan, *Indigofera sp.* tidak hanya dapat diberikan pada ternak ruminansia, tetapi juga dapat diberikan pada ternak **monogastrik** seperti pada ayam petelur. *Indigofera sp.* memiliki keunggulan **agronomis** yang mampu memproduksi sebanyak 31-51 ton BK/ha/tahun dan dapat bertahan pada lahan kering hingga 25% kapasitas lapang. *Indigofera sp.* memiliki banyak kandungan nutrisi antara lain berupa protein kasar 24,57 %, serat kasar 18,18%, kalsium 1,59%, fosfor 0,22% dan energi 2.667 kkal/kg, dengan pencernaan bahan kering sebesar 76%, bahan organik sebesar 83% dan kandungan *Volatile Fatty Acid (VFA)* total berkisar 135,54-157,06 mM. *Indigofera sp.* juga mengandung **antioksidan** yang juga sekaligus sebagai zat anti nutrisi berupa **fenol** 0,22% dan **flavonoid** 0,14%. Zat anti nutrisi lain yang terdapat pada *Indigofera sp.* antara lain **tanin, saponin, alkaloid, carbohydrate glycosides, terpenoid, steroid dan indospicine**. Kandungan flavonoid, saponin dan tanin dalam *Indigofera sp.* berperan sebagai antioksidan dan **antibiotik** yang dapat menghambat pertumbuhan **bakteri, virus** dan jamur.

BAB II

ORGAN REPRODUKSI TERNAK

Organ reproduksi adalah suatu organ yang digunakan untuk memproduksi sel gamet. Organ reproduksi jantan dan betina akan memproduksi **sel gamet** jantan dan betina. Organ reproduksi jantan akan memproduksi sel spermatozoa sebagai sel gamet jantan, sedangkan organ reproduksi betina akan memproduksi sel telur sebagai sel gamet betina.

2.1. Organ Reproduksi Jantan (*Organo Genitalia Masculina*)

Organ reproduksi jantan pada dasarnya dapat dibagi atas 2 komponen yaitu :

- a. *Organ Reproduksi Primer*, Organ reproduksi primer jantan terdiri dari *testis*, yang disebut juga orchis, didimos, testiculum, gonad (jamak *testes*). Organ reproduksi primer merupakan organ yang memproduksi sel gamet jantan/sel spermatozoa. Testis terdiri dari beberapa **sel interstitial** antara lain **sel sertoli**, **sel leydig** dan **sel tubuli seminiferi**. Sel tubuli seminiferi adalah tempat memproduksi sel spermatozoa. Fungsi dari sel tubuli seminiferi didukung dengan adanya sel leydig di testis yang akan memproduksi hormon ***testosterone*** yang merupakan salah satu hormon penting dalam spermatogenesis selain *Luteinizing Hormone* (LH). Selanjutnya, fungsi utama dari sel sertoli adalah produksi nutrisi bagi proses spermatogenesis. Sel sertoli akan memproduksi beberapa bahan nutrisi utama dalam menjamin keberlangsungan hidup spermatozoa.
- b. *Organ Reproduksi Sekunder*, Organ reproduksi sekunder jantan terdiri dari kelenjar *accessoris* dan saluran sperma. Selengkapnya kedua bagian organ reproduksi sekunder dijelaskan berikut ini :

1. Kelenjar Accessoris / tambahan yaitu :
 - Kelenjar vesicularis (vesicula seminalia / seminularis) merupakan suatu kelenjar yang ada di **ampulla** dan berfungsi untuk memproduksi cairan semen yang merupakan *buffer* pH, kontrol isotonis dan sumber nutrisi utama spermatozoa.
 - Kelenjar prostata, kelenjar ini memiliki fungsi utama dalam memberi bau khas pada sperma yang sering disebut dengan bau **spermin**. Bau spermin ini juga berasal dari hormon **feromon** yang memberikan rangsang penciuman terhadap betina yang dikawininya. Bau spermin ini akan meningkatkan keberhasilan perkawinan. Kelenjar prostat ini tidak dimiliki oleh ternak domba.
 - Kelenjar Cowper (bulbo urethralis), merupakan kelenjar yang memiliki fungsi utama dalam membersihkan saluran semen yang juga merupakan saluran urine. Cairan dari kelenjar bulbourethralis akan dikeluarkan terlebih dahulu sebelum terjadinya ejakulasi.

2. Saluran sperma
 - Epididimis, adalah suatu saluran yang berhubungan dengan testis secara langsung. Epididimis berhubungan fungsi transportasi, deposisi, peningkatan konsentrasi, **maturasi** dan reabsorpsi. Proses pematangan spermatozoa yang dicirikan dengan **protoplasmic droplet** terjadi di dalam epididimis.
 - Ductus deferent merupakan saluran penghubung epididimis dengan ampula. Ductus deferents akan menuju ampula terlebih dahulu sebelum kemudian kemudian

bersatu dengan ureter (analisis oropoetica) menjadi urethra

- Ampulla merupakan tempat terbentuknya semen yang berasal dari spermatozoa yang diproduksi oleh testis dan cairan semen yang diproduksi oleh kelenjar vesicularis yang ada di ampulla. Ampulla akan menyalurkan semen ke dalam saluran penis ketika muncul adanya rangsangan.
- Alat kelamin bagian luar (pars genitalia externa) atau organ kopulasi yang disebut penis. Penis dibagi menjadi dua bagian yaitu bagian bebas dan bagian yang tidak bebas. Bagian ujung disebut gland penis. Pada gland penis domba di ujungnya terdapat suatu penonjolan yang disebut *processus urethralis*. Pada babi dilengkapi dengan kantong preputial. Pergerakan penis dipengaruhi oleh adanya otot retractor penis yang akan mengalami kontraksi ketika muncul sebuah rangsangan dari betina. Rangsangan seksual dari betina dapat terjadi melalui rangsang penciuman, rangsang sentuhan, rangsang suara dan rangsang penglihatan.

2.2. Organ Reproduksi Betina (*Organo Genetalia Femimina*)

Organ reproduksi betina pada dasarnya dapat dibagi atas 3 komponen yaitu :

- a. *Organ Reproduksi Primer*, Organ reproduksi primer betina terdiri dari Ovarium, yang menghasilkan ovum dan hormon-hormon reproduksi betina. Ovum berada pada folikel primordial yang berukuran kecil yang sering disebut folikel primer, selanjutnya folikel tersebut akan

berkembang menjadi folikel sekunder, folikel tertier dan **folikel De Graaf**. Di dalam folikel inilah terdapat sel-sel *theca interna* yang akan memproduksi hormon *estrogen* dengan rangsangan dari *luteinizing hormone*.

- b. *Organ Reproduksi Sekunder*, Organ reproduksi sekunder betina terdiri dari saluran reproduksi yang terdiri dari : tuba falopii / oviduct (infundibulum, isthmus dan ampulla), uterus (Cornua dan corpus), cervix, vagina dan vulva. Fungsi organ reproduksi sekunder hewan betina adalah menerima atau menyalurkan sel kelamin jantan maupun sel kelamin betina, memberi nutrisi dan melahirkan fetus.
- c. *Organ Pelengkap*, Organ reproduksi pelengkap pada hewan betina yaitu kelenjar mammae yang akan menghasilkan air susu untuk mendukung pertumbuhan anak

BAB III

INSEMINASI BUATAN PADA TERNAK

Inseminasi adalah perkawinan pada ternak dengan cara mendeposisikan **semen**/mani kedalam organ reproduksi betina secara buatan dengan bantuan manusia. Pengertian secara lebih luas tentang Inseminasi Buatan juga diartikan sebagai serangkaian proses kegiatan yang meliputi: pemeliharaan pejantan, penampungan semen, pemeriksaan kualitas semen, proses pengenceran semen, pembekuan semen, distribusi semen ke pengguna, pelaksanaan inseminasi dan evaluasi hasil. Keberhasilan Inseminasi Buatan pada ternak kambing/domba sapi dan kerbau pada prinsipnya ditentukan oleh faktor **betina akseptor**, petugas inseminasi (**inseminator**), peternak dan kualitas semen (segar atau beku) yang akan diinseminasikan. Betina akseptor dapat diperhatikan terhadap normalitas fungsi-fungsi fisiologi reproduksinya. Keahlian, kemampuan dan pengalaman inseminator dalam pelaksanaan tugasnya menjadi faktor penting. Peternak bertanggung jawab atas pemeliharaan ternak betinanya terutama terhadap kesehatan reproduksi dan kesuburan ternaknya. Kualitas semen menentukan terjadinya pembuahan ketika telah berada didalam organ reproduksi hewan betina. Kualitas semen yang digunakan harus tetap dipertahankan agar tetap memperoleh angka kebuntingan yang tinggi dalam melakukan inseminasi. Inseminasi dapat dilakukan dengan menggunakan semen beku ataupun semen cair yang berasal dari pejantan unggul. Baik semen beku maupun semen cair selalu membutuhkan bahan pengencer semen yang memenuhi syarat sebagai bahan pengencer berkualitas.

Inseminasi buatan tidak dapat memperbaiki “mutu ternak”, akan tetapi IB merupakan cara yang tepat untuk sarana perbaikan mutu genetik ternak. Dalam melakukan inseminasi buatan sebenarnya tidak sesederhana seperti yang tersebut di atas, akan tetapi ada 3 hal pokok yang harus dikerjakan yaitu pengambilan/penampungan semen, penanganan semen dan penyimpanan semen.

3.1. Penampungan Semen

Penampungan semen terdiri dari 3 metode yaitu *massage* (pemijatan), menggunakan vagina buatan dan menggunakan *electro ejaculator*. Salah satu kegiatan penampungan semen yang umum dilakukan adalah penggunaan **vagina buatan**. Ternak jantan dapat dilakukan penampungan dengan menggunakan pemancing ternak betina, sesama jantan maupun *dummy*. Sebelum penampungan semen lokasi tempat penampungan dibersihkan dengan **desinfektan**, ternak dimandikan dan bagian *preulum preputio* dibersihkan. Hal ini penting untuk menghindari penularan penyakit dari pejantan ke banyak betina. Selain itu, apabila tercampur dengan benda asing akan menyebabkan kerusakan semen dengan banyaknya **mikroba** di dalam semen. Sebelum dilakukan penampungan pejantan dilakukan *false mounting* 3 - 5 kali yang bertujuan untuk meningkatkan **libidonya**. Vagina buatan diisi dengan air bersuhu 37°C disesuaikan dengan kondisi lingkungan spermatozoa sehingga tidak terjadi *cold shock* atau *heat shock* dan telah dioleskan **vaselin** pada bagian ujung karetinya. Vagina buatan yang akan digunakan untuk penampungan, diposisikan dengan kemiringan 45° ke arah atas pada garis horizontal pemancing. **Ejakulasi** dapat ditandai dengan terjadinya dorongan secara tiba-tiba ke arah depan dan kedua kaki belakang pejantan terangkat seolah akan menaiki pemancing.

3.2. Penanganan Semen

- Uji kualitas semen

Pemeriksaan semen pasca penampungan bertujuan untuk mengetahui apakah semen dapat dilakukan tindakan lanjut untuk menjadi semen beku. Semen hasil penampungan dilakukan pengujian secara makroskopis dan mikroskopis. Evaluasi makroskopis meliputi volume yang langsung terbaca pada tabung penampung dalam skala ml, warna semen dengan melihat langsung semen yang ditampung, konsistensi dengan

memiringkan tabung dan melihat semen bergerak mengikuti kemiringan dan pH semen yang diukur menggunakan kertas pH. Evaluasi mikroskopis meliputi **gerak massa**, **motilitas** semen segar, konsentrasi, **motilitas**, persen hidup, **abnormalitas**, **viabilitas**, membrane plasma utuh dan tudung akrosom utuh.

Perhitungan gerak massa memiliki rentang nilai 1 – 4 yang dibagi dalam kategori sangat baik (+3) dimana terdapat gelombang besar, banyak, gelap, tebal dan aktif seperti gumpalan awan hitam yang bergerak cepat berpindah-pindah, kategori baik (+2) dimana terdapat gelombang kecil tipis, jarang, kurang dan bergerak lamban, kategori kurang baik (+1) dimana tidak ada gelombang namun terdapat pergerakan individu yang **progresif** dan kategori buruk (0) dimana hanya sedikit terdapat gerakan individu. Konsentrasi sperma dihitung menggunakan alat yang bernama *haemocytometer* yang dilengkapi tabel hitung. Besarnya motilitas normal spermatozoa pada kondisi segar adalah 70 – 90% dan dapat dilanjutkan prosesnya dalam pembuatan semen beku. Abnormalitas spermatozoa di bawah persentase 20% adalah kondisi abnormalitas spermatozoa yang baik dan bisa diproduksi menjadi semen beku.

Motilitas spermatozoa merupakan pergerakan spermatozoa dalam kemampuannya untuk membuahi ovum. Sperma dikatakan memiliki kualitas baik apabila motilitasnya **progresif** yaitu gerakan sperma maju ke depan. Selain gerakan maju ke depan (*progressive motility*) terdapat gerakan sperma lain yaitu *non-progressive motility* dimana tidak ada gerakan maju atau gerakan melingkar dan *immotility* yaitu sperma tidak bergerak. Pergerakan spermatozoa yang melingkar dapat disebabkan oleh *cold shock*. Gerakan sperma yang berayun dan berputar di tempat, dapat menandakan bahwa sperma tersebut sudah terproduksi lebih lama. Standar motilitas **semen beku** pada kambing yaitu 40% pada uji *post thawing motility* (PTM) sehingga sebelum diproses menjadi **semen beku**, semen segar kambing harus memiliki motilitas >40%. Hal yang perlu diperhatikan dalam *processing* semen adalah penyediaan energi atau ATP untuk mempertahankan kualitas sperma khususnya

motilitas sperma. Umur pejantan, kematangan spermatozoa, pH dan suhu lingkungan menjadi faktor yang mempengaruhi tinggi rendahnya **motilitas** spermatozoa. Umumnya, evaluasi motilitas lebih mudah diamati pada semen segar dengan konsentrasi yang sedang. Pemeriksaan motilitas **spermatozoa** dapat dilakukan di bawah mikroskop atau pada layar komputer. Pemeriksaan di bawah mikroskop mengandung tingkat kesalahan lebih tinggi dibanding pemeriksaan pada layar komputer karena observator memiliki perkiraan penilaian yang berbeda-beda.

Pengamatan persen hidup dilakukan dengan cara semen yang telah diberi perlakuan pengencer (*work solution*) ditetaskan sebanyak 1 tetes ke *object glass* dan ditetesi eosin 0,2% sebanyak 1 tetes dan dibuat preparat ulas menggunakan bunsen lalu diamati di bawah mikroskop perbesaran 400 kali. Sperma yang hidup dihitung dengan menggunakan alat bantu *handtally counter* sebanyak 100 sperma. Persen hidup diketahui dengan rumus:

$$\frac{\text{Jumlah spermatozoa hidup}}{\text{Jumlah total spermatozoa}} \times 100\%$$

Abnormalitas spermatozoa erat kaitannya dengan morfologi spermatozoa yang terlihat abnormal. Terdapat dua kategori abnormalitas spermatozoa yaitu berdasarkan proses pembentukan dan dampaknya terhadap fertilitas. Proses pembentukan spermatozoa membagi abnormalitas menjadi dua kategori yaitu **abnormalitas primer** yang terjadi ketika spermatogenesis dan **abnormalitas sekunder** ketika terjadi ejakulasi hingga preservasi. Kategori abnormalitas berdasarkan dampaknya terhadap fertilitas pejantan, dibedakan menjadi **abnormalitas mayor** yang memiliki dampak besar ketika fertilitas dan **abnormalitas minor** yang dampaknya kecil terhadap **fertilitas**. Pemeriksaan morfologi spermatozoa untuk mengetahui abnormalitas spermatozoa dapat menggunakan **Eosin-nigrosin** dengan diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Letak abnormalitas primer spermatozoa

terdapat pada bagian kepala dan sebagian bersifat genetik serta berdampak pada fertilitas. Berbeda halnya dengan abnormalitas sekunder yang letaknya pada bagian ekor dan mudah terseleksi pada saat pengujian motilitas. Tingkat persentase abnormalitas spermatozoa dapat dihitung dengan rumus:

$$\frac{\text{Jumlah sperma abnormal}}{\text{sperma teramati}} \times 100\%$$

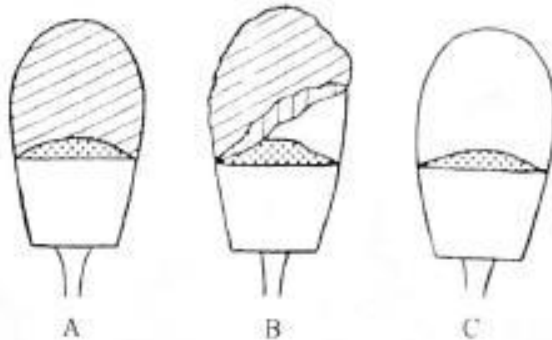
Viabilitas merupakan kemampuan sel spermatozoa untuk bertahan hidup pada lingkungan dan waktu tertentu. Latar belakang pemeriksaan viabilitas adalah spermatozoa yang diejakulasikan harus mengalami proses kapasitasi untuk sampai di dalam organ kelamin betina. Kapasitasi adalah waktu yang dibutuhkan oleh sel spermatozoa di dalam saluran alat kelamin betina untuk mempersiapkan diri sebelum membuahi sel telur. Waktu minimum untuk proses kapasitasi adalah 2 jam yaitu waktu yang digunakan spermatozoa untuk berpindah menuju tempat pembuahan. Standarisasi minimal persentase motilitas spermatozoa kambing yang diinkubasi dalam *water incubator* adalah 10%. Viabilitas sperma memiliki peranan penting karena digunakan sebagai penilaian kualitas semen yang akan digunakan untuk inseminasi buatan. Viabilitas yang baik pada umumnya ditandai dengan spermatozoa dapat bergerak progresif dan tetap hidup sehingga dapat melakukan fertilisasi. Viabilitas yang baik pada umumnya ditandai dengan sel spermatozoa yang dapat bergerak progresif dan tetap hidup sehingga dapat melakukan fertilisasi. Daya gerak spermatozoa yang progresif sangat dibutuhkan untuk mencapai tempat pembuahan yaitu pada saat menembus lapisan pelindung ovum. Jumlah spermatozoa hidup dapat dipertahankan dengan tersedianya sumber energi yang dibutuhkan spermatozoa serta memberikan tekanan osmotik yang isotonis sehingga dapat menjaga ketahanan hidup spermatozoa. **Fertilitas** merupakan salah satu variabel kualitas spermatozoa yang memiliki peranan penting

dalam menentukan keberhasilan **fertilisasi**. Pada umumnya spermatozoa dapat bertahan hidup lama pada pH 7,0. Faktor-faktor yang berpengaruh terhadap viabilitas dan aktivitas spermatozoa antara lain cahaya matahari langsung, kejut dingin, kontaminasi dengan mikroba, zat kimia beracun, panas yang berlebihan dan guncangan saat membawa semen. Selain itu, faktor lain yang mempengaruhi penurunan viabilitas spermatozoa adalah semakin sedikitnya spermatozoa yang memiliki cadangan energi untuk bergerak akibat laju penurunan suhu. Konsentrasi spermatozoa dalam media pengencer dapat mempengaruhi viabilitas karena metabolisme berkaitan erat dengan jumlah spermatozoa hidup. Metabolisme spermatozoa dapat menghasilkan asam laktat dan penurunan pH semen sehingga dapat mengakibatkan penurunan motilitas dan daya hidup spermatozoa keracunan dan kematian bagi spermatozoa.

Pengujian membran plasma utuh menggunakan metode *hyposmotic swelling* (HOS). Larutan osmolalitas dibuat dari campuran NaCl dengan *aquabidest*. Larutan HOS yang diberikan 1 : 10 (0,2 ml semen yang telah diberi perlakuan : 2 ml larutan hiposmotik) kemudian dihomogenkan dan diinkubasi suhu 37°C selama 30 menit sampai 1 jam. Lalu membuat preparat ulas dan diamati menggunakan mikroskop dengan pembesaran 400x minimal 100 sperma. Pengamatan yang dilakukan adalah keadaan membran plasma utuh yang rusak maka ekornya lurus, sedangkan yang masih utuh ekornya melingkar dan menggelembung.

Tudung akrosom merupakan suatu struktur yang berbentuk topi yang menutupi dua per tiga bagian anterior kepala. Bagian akrosom meliputi bagian *apical segment* (membran terluar), *principal segment* (tudung akrosom) dan *equatorial segment*. Membran bagian kepala berfungsi untuk menembus sel telur pada proses fertilisasi, sedangkan membran bagian belakang akrosom berfungsi untuk mengadakan kontak pertama dan menyatu dengan oolema sel telur pada proses fertilisasi. Tudung akrosom memiliki enzim **hialuronidase**,

akrosin, corona penetrating enzyme (CPE) yang berfungsi untuk melisis *zona pellusida* sebagai tempat masuknya spermatozoa ke dalam sitoplasma oosit pada proses fertilisasi. Tudung akrosom adalah salah satu variabel dari kualitas spermatozoa yang memiliki peranan sentral dalam menentukan keberhasilan fertilisasi sehingga harus tetap terjaga keutuhannya hingga terjadi kapasitasi. Tudung akrosom yang rusak akan menyebabkan enzim-enzim keluar dan kemampuan spermatozoa saat pembuahan menurun. Kelainan atau kerusakan pada tudung akrosom merupakan salah satu bentuk abnormalitas dari kepala spermatozoa yang dapat disebabkan oleh abnormalitas primer atau abnormalitas sekunder (Ilustrasi 2). Spermatozoa yang memiliki viabilitas tinggi menandakan bahwa membran plasma masih utuh sehingga organel sel spermatozoa menjadi terlindungi dan kebutuhan zat-zat makanan untuk proses metabolisme tersedia. Tudung akrosom perlu tetap utuh sebelum diinseminasikan agar enzim yang ada di dalamnya baru dilepaskan di dalam organ reproduksi betina.



Ilustrasi 2. Tudung Akrosom Utuh (A); Tudung Akrosom Terlepas Sebagian (B); Tudung Akrosom Terlepas Seluruhnya (C)

- Pengenceran semen

Pengenceran semen dilakukan dengan menambahkan bahan pengencer pada semen segar yang lolos evaluasi menggunakan bahan-bahan yang mampu memberikan nutrisi dan menyediakan lingkungan yang nyaman bagi sperma selama penyimpanan sebelum digunakan untuk inseminasi buatan IB. Bahan yang digunakan untuk pembuatan semen beku contohnya adalah tris kuning telur. Bahan pengencer ini mengandung **lipoprotein** dan **lesitin** untuk melindungi semen selama pembekuan hingga digunakan. Bahan-bahan lain yang dapat digunakan untuk pembuatan semen beku seperti larutan Ringer's, selain itu juga ada bahan pengencer berupa susu skim dan fruktosa. Bahan pengencer yang digunakan dalam pembuatan semen beku dan semen cair kambing merupakan sekumpulan bahan-bahan yang diharapkan dapat berperan sebagai **kriopreservasi** semen. Bahan-bahan yang digunakan dibuat dalam bentuk larutan, disebut dengan larutan **stock solution**.

Stock solution pengencer yang digunakan dalam pengenceran semen merupakan *stock solution* yang dapat memberi nutrisi bagi sperma, tidak bersifat racun, bersifat isotonis, anti *cold shock*, dapat menghambat aktivitas bakteri, dapat menjadi *buffer* dan dapat menambah volume semen yang diencerkan, sehingga dapat digunakan sebagai bahan pengencer yang lengkap. Karakteristik semen kambing yang memiliki enzim **fosfolipase A** yang diekskresikan oleh kelenjar **bulbouretralis** dapat membuat kematian semen apabila menggunakan bahan pengencer yang mengandung kuning telur, sehingga penggunaan *stock solution* dapat pula mencegah terjadinya kematian spermatozoa pada semen kambing yang akan diencerkan. Keberhasilan bahan pengencer *stock solution* yang digunakan dapat dilihat dari tingkat motilitas spermatozoa setelah penambahan bahan pengencer dan abnormalitas spermatozoa.

Pengenceran semen merupakan langkah terbaik dalam menjamin kebutuhan fisik dan kimia. Pengenceran semen segar dihitung terlebih dahulu untuk mengetahui jumlah bahan

pengencer yang dapat ditambahkan dalam semen segar yang akan diencerkan dengan menggunakan rumus:

$$\frac{\text{Volume semen} \times \% \text{ motilitas} \times \text{konsentrasi}}{100 \times 10^6} \times 0,25$$

Pengenceran tersebut didasarkan pada volume ejakulat, konsentrasi, persen sperma hidup dan motil **progresif**. Penambahan bahan pengencer yang berlebihan saat proses pengenceran, dapat menyebabkan konsentrasi pengencer menjadi lebih pekat dan berubah menjadi *hypertonic*, sehingga menyebabkan kerusakan pada membran serta menghambat metabolisme spermatozoa. Kondisi ini membuat berkurangnya energi pergerakan spermatozoa, sehingga pada akhirnya tingkat **motilitas** menjadi menurun.

Pengenceran semen adalah suatu usaha untuk mempertahankan kualitas dan fertilitas spermatozoa dalam waktu yang lama. Fungsi utama pengenceran semen adalah untuk memperbanyak volume semen, agar setiap semen yang diejakulasikan dapat dipergunakan untuk mengawini sejumlah betina, hal ini akan memberikan efisiensi yang tinggi dalam penggunaan semen dari seekor pejantan dibandingkan dengan perkawinan secara alami. Disamping itu pengencer semen menentukan kualitas semen segar, saat akan dibekukan maupun kualitas post thawing-nya. Fungsi pengencer tersebut adalah memperbanyak volume dan sebagai sumber nutrisi bagi sel spermatozoa. Pengencer semen harus mampu menyediakan nutrisi sebagai sumber energi (karbohidrat/glukosa), untuk proses metabolik serta pergerakan (motilitas) sehingga spermatozoa mampu membuahi sel telur.

Ketika dibekukan, sel spermatozoa memerlukan perlindungan terhadap cekaman suhu yang sangat dingin (*cold shock*), untuk itu zat-zat yang harus ada dalam pengencer adalah gliserol, lipoprotein ataupun lesitin pada jumlah tertentu. Pengencer juga dilengkapi bahan-bahan yang berfungsi sebagai *buffer*/penyangga agar pH tetap stabil, kemudian bahan-bahan yang berfungsi mempertahankan tekanan osmotik dan

keseimbangan elektrolitnya (Tris, Citrat) serta antibiotik yang berfungsi untuk mencegah tumbuhnya kuman yang dapat mengganggu aktifitas metabolik sel spermatozoa. Bahan-bahan untuk pengencer semen dipilih dari bahan-bahan yang mudah didapat sebagai contoh susu skim, kuning telur dll serta murah dan praktis dalam pembuatannya, tidak beracun serta tidak merusak sel serta aman terhadap saluran organ reproduksi hewan betina.

Pengencer semen harus memenuhi syarat yaitu bersih, steril dan tidak bersifat toksik baik untuk spermatozoa maupun untuk kelamin betinanya. Media pengencer yang baik harus memiliki fungsi sebagai penyedia nutrisi untuk spermatozoa selama penyimpanan, pelindung akibat pendinginan, melindungi spermatozoa dari kerusakan akibat perubahan pH, mengatur keseimbangan osmotik bagi spermatozoa serta menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen. Proses pengenceran semen harus sesuai dengan dosis tertentu sehingga setiap satuan volume semen yang akan digunakan untuk IB mengandung cukup spermatozoa untuk betina. Pengenceran semen dapat berpengaruh terhadap kehidupan dan metabolisme spermatozoa karena penambahan pengencer akan memberikan suasana baru bagi spermatozoa sehingga dibutuhkan proses adaptasi bagi spermatozoa, apabila pengencer yang digunakan sesuai untuk spermatozoa maka akan mampu mempertahankan spermatozoa untuk bertahan hidup lebih lama, sebaliknya apabila pengencer kurang cocok untuk spermatozoa maka akan ditunjukkan dengan menurunnya daya gerak bahkan kematian pada sel spermatozoa. Bahan pengencer yang telah banyak digunakan di Indonesia antara lain tris-kuning telur, susu skim-kuning telur, air kelapa, laktosa-kuning telur dan pengencer komersial yaitu Andromed® dan Bioxcell®.

3.3. Penyimpanan Semen

Semen hasil pengenceran dapat disimpan dalam 2 bentuk yaitu semen cair dan semen beku. Penyimpanan semen cair

dilakukan dengan menempatkan semen ke dalam pendingin dengan suhu berkisar 3-5°C. Penyimpanan dalam bentuk semen cair dapat bertahan selama 3 hari. Penyimpanan dengan semen beku dapat dilakukan dengan menggunakan nitrogen cair pada suhu berkisar -196°C, Penyimpanan semen beku tidak langsung dilakukan ke dalam nitrogen cair, namun tahapannya dimulai dari proses **prefreezing** dengan meletakkan straw 10 cm diatas permukaan nitrogen cair selama 9 menit sehingga akan terkena uap nitrogen cair. Selanjutnya baru dilakukan perendaman ke nitrogen cair. Proses ini dilakukan secara bertahap dengan harapan menghindari *cold shock*.

BAB IV

PEMANFAATAN *INDIGOFERA SP.* DALAM INSEMINASI BUATAN SEBAGAI BAHAN PENGECER SEMEN

Fakta menunjukkan bahwa saat ini pengencer semen yang digunakan untuk pengencer semen sapi, kambing/domba di beberapa pabrik semen beku menggunakan bahan pengencer antara lain kuning telur, susu skim. Kuning telur dan susu skim diketahui mengandung zat-zat yang penting dan cukup untuk kehidupan sel spermatozoa. Ada beberapa hal yang seringkali terlupakan dalam membuat pengencer semen, yaitu yang terkait dengan aspek fisis yakni, sifat isotonik terhadap sel spermatozoa, molaritas pengencer dan tingkat kekeruhan/kejernihan pengencer. Suatu larutan yang mengandung banyak sekali partikel dan senyawa-senyawa kimia, bahan-bahan organik yang tersuspensi maka larutan itu terlihat keruh, termasuk pengencer semen yang dibuat dari kuning telur maupun susu skim. Kuning telur dan susu skim secara fisik mempunyai struktur partikel yang besar dan dalam jumlah banyak sehingga pada pengencer semen yang menggunakan bahan-bahan tersebut terlihat keruh. Upaya-upaya untuk mengoptimalkan bahan pengencer semen adalah melakukan proses penjernihan dengan teknik **filtrasi** tanpa mengurangi fungsi dari bahan-bahan pengencer untuk tetap memberikan lingkungan yang bagus pada sel spermatozoa yang diencerkan. Pengencer semen dapat dibuat dari bahan-bahan pengencer yang terpilih dan memenuhi syarat, baik dari bahan-bahan kimianya maupun bahan-bahan lain (*herbal/organik*) yang bersifat memperkaya zat-zat yang diperlukan untuk pengencer semen. Kemudian yang terpenting adalah bahan-bahan penyusun pengencer semen tersebut mempunyai partikel yang cukup dan diminimalisasikan **suspensi** yang terjadi, sehingga wujud pengencer semen tampak bersih dan jernih. Manfaat yang penting pada pengencer semen dengan wujud yang jernih dan bersih adalah antara lain membantu

mempermudah pengamatan mikroskopis terhadap semen yang telah diencerkan.

Kekeruhan pada larutan pengencer semen adalah penggambaran sifat optik dari hasil pembuatan pengencer semen. Kekeruhan tersebut disebabkan oleh bahan penyusun pengencer yang tersuspensi dan terjadinya koloid akibat pencampuran bahan penyusun pengencer semen. Larutan/medium/ pengencer semen yang mempunyai tingkat kekeruhan tinggi akan dapat menimbulkan gangguan pada material (sel spermatozoa) yang dikultur didalamnya, antara lain gangguan respirasi (oksigen terhalang oleh senyawa tersuspensi ataupun koloid) dan sebagainya yang bisa mengganggu kelangsungan hidup terhadap sel spermatozoa yang di kultur dalam medium tersebut. Untuk bahan pengencer semen saat ini yang terbuat dari kuning telur ataupun susu skim masih merupakan padatan terlarut total (*Total Dissolved Solid/TDS*) yang dapat dipastikan bahan-bahan terlarut tersebut (senyawa-senyawa kimia dan bahan lain) mempunyai diameter 10 mm, sehingga tampak keruh, jika diukur turbiditasnya hampir mencapai 150 NTU. Untuk memperoleh pengencer semen yang jernih dan mempunyai **turbiditas** rendah dapat diupayakan dengan teknik filtrasi terhadap pengencer semen yang masih mempunyai tingkat kekeruhan diatas 50 NTU. Turbiditas pengencer semen dengan wujud yang jernih sebaiknya berada pada kisaran antara 25 sampai 50 NTU, tentu turbiditas ini lebih tinggi jika dibandingkan dengan air layak minum (3-5 NTU). Pengencer semen mempunyai turbiditas yang lebih tinggi dikarenakan merupakan campuran dari air, bahan-bahan kimia, bahan-bahan organik tambahan yang bersifat memperkaya pengencer semen.

Pengencer semen **GPR-PRO** adalah pengencer semen dengan formulasi lengkap yang diperkaya kandungan nutrisi dari tanaman herbal *Indigofera sp.* Pengencer semen GPR-PRO dibuat secara cermat berdasarkan inovasi-inovasi baru yang dikembangkan melalui penelitian untuk mencapai kualitas bahan pengencer semen yang optimal. Pengencer GPR-PRO bersifat isotonik terhadap sel spermatozoa dan mempunyai wujud yang

jernih, wujud pengencer yang jernih ini sangat potensial mendukung lingkungan yang bagus terhadap sel spermatozoa untuk dapat mempertahankan kemampuan membuahi, disebabkan karena partikel-partikel zat nutritif yang lembut memberikan kemudahan sel spermatozoa untuk dimanfaatkan dalam mensintesa energi guna meningkatkan motilitas dan meningkatkan daya fertilisasinya. Pengencer ini juga dilengkapi bahan-bahan yang berfungsi sebagai *buffer*/penyangga agar pH tetap stabil, kemudian bahan-bahan yang berfungsi mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolitnya serta antibiotik yang berfungsi untuk mencegah tumbuhnya kuman yang dapat mengganggu aktifitas metabolik sel spermatozoa. Pengencer semen ini mempunyai kemampuan mempertahankan kualitas semen pada pemeriksaan kualitas semen secara mikroskopis terhadap motilitas, viabilitas dan abnormalitasnya. Selanjutnya pengencer GPR-PRO ini diujicobakan untuk pengenceran semen hasil penampungan dari pejantan kambing kejobong dan diinseminasikan pada betina akseptor kambing Kejobong.

BAB V

PROSEDUR PEMBUATAN PENGECER SEMEN GPR-PRO DENGAN PENAMBAHAN *INDIGOFERA SP.*

5.1. Pembuatan Ekstrak *Indigofera sp.*

Bahan yang diperlukan dalam pembuatan ekstrak *Indigofera sp.* terdiri dari daun *Indigofera sp.* dan *aquabidest.* Perbandingan yang digunakan yaitu 1 g : 30 ml. Kedua bahan tersebut diblender dan diambil sarinya dengan dipisahkan dari ampas kasar. Sari *Indigofera sp.* kemudian disentrifuse selama 40 menit untuk mendapatkan kembali supernatan yang lebih bening (Ilustrasi 3).

5.2. Prosedur Pembuatan Pengencer Semen GPR-PRO

Pembuatan pengencer semen GPR-PRO diawali dengan pembuatan *stock solution* dengan menggunakan bahan-bahan yang tertera pada Tabel 1.

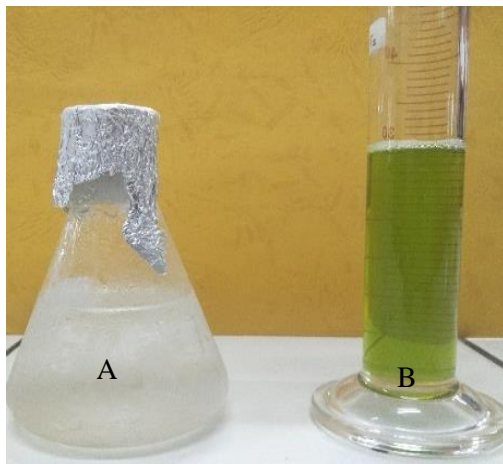
Tabel 1. Bahan yang Diperlukan dalam Pembuatan *Stock Solution*

Bahan	Konsentrasi (g/100ml)
NaCl	0.6546
KCl	0.0300
NaH ₂ PO ₄ .6H ₂ O	0.0228
MgCl ₂ .2H ₂ O	0.0106
CaCl ₂ .2H ₂ O	0.0331
NaHCO ₃	0.3108
Penicillin (IU)	1000
Glukosa	0.2756
Na Pyruvate	0.0138

Prosedur pembuatan *stock solution* diawali dengan persiapan alat dan bahan yang dibutuhkan dan menimbang

dengan tepat NaCl, KCl, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, NaHCO_3 , glukosa dan Na Pyruvate (sebagai larutan 1). Bahan tersebut kemudian dimasukkan kedalam erlenmeyer dengan ukuran 100 ml kemudian ditambahkan *deionized water* sebanyak 70 ml dan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*. Bahan lainnya berupa $\text{MgCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (sebagai larutan 2) ditimbang dan dimasukkan kedalam erlenmeyer dengan ukuran 25 ml. Kemudian ditambahkan *deionized water* sebanyak 20 ml dan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*. Selanjutnya, masukkan tetes demi tetes larutan 2 ke larutan 1, kemudian ditambahkan antibiotik dan *deionized water* sampai mencapai volume 100 ml dengan pH sebesar 7,2 (Ilustrasi 3)

Sebanyak 100 ml *stock solution* ditambahkan *Indigofera sp.* sebanyak 1%. Selanjutnya melakukan filtrasi dengan menggunakan filter yang mempunyai diameter pori-pori 0,22 μm , hasil filtrasi disimpan kedalam botol tertutup dan disimpan pada ruang suhu dingin (5°C), pengencer semen GPR-PRO siap digunakan.



Ilustrasi 3. *Stock Solution* (A) dan Ekstrak *Indigofera sp* (B).

5.3. Pengenceran Semen

Volume semen hasil penampungan, konsentrasi dan motilitas digunakan sebagai dasar perhitungan untuk menentukan volume pengencer yang dibutuhkan. Adapun rumus pengenceran semen adalah sebagai berikut:

$$VP = \frac{VE \times K \times m \times VI}{DI (100 \text{ juta})}$$

Keterangan:

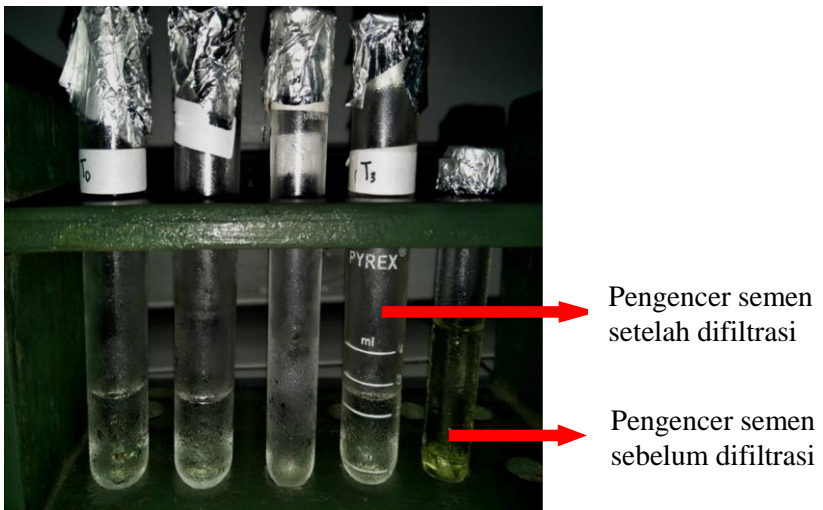
- VP : Volume pengencer (ml)
- VA : Volume Ejakulat (ml)
- K : Konsentrasi ($10^6/\text{ml}$)
- M : Motilitas (%)
- VI : Volume inseminasi
- DI : Dosis Inseminasi (100 juta)

Pengenceran dilakukan dengan mencampurkan ejakulat semen dengan pengencer semen yang telah ditentukan banyaknya sesuai dengan hasil perhitungan menurut rumus kebutuhan pengencer tersebut. Dalam perhitungan penentuan banyaknya bahan pengencer yang ditambahkan sudah termasuk penentuan dosis IB yaitu pada kambing 100 juta sel spermatozoa/ml, sehingga pada pelaksanaan inseminasi setiap betina diinseminasikan sebanyak 0,25 ml yang mengandung 25 juta sel spermatozoa.

BAB VI

PENAMPAKAN PENGENCER SEMEN GPR-PRO

Hasil dari pembuatan pengencer semen yang mengandung *Indigofera sp.* tertera pada Ilustrasi 4. Penampakan dari pengencer semen sebelum difiltrasi tersebut tampak masih terlihat butir-butir partikel yang tersuspensi serta warna kehijauan. Partikel-partikel ini adalah merupakan wujud dari bahan-bahan penyusun pengencer semen.



Ilustrasi 4. Penampakan Pengencer Semen GPR-PRO Sebelum dan Sesudah Difiltrasi.

Warna kehijauan adalah butir-butir hijau daun (*chlorophyll*) yang masih ada, sekalipun dalam preparasi daun *Indigofera sp.* telah melalui proses sentrifugasi untuk memperoleh *supernatan*-nya. Pengujian terhadap tingkat kekeruhan/turbiditas pengencer semen sebelum dilakukan filtrasi rata-rata diperoleh 47.06 NTU (Nephelometric Turbidity Unit). Artinya bahwa dalam pengencer semen terdapat suspensi/koloid yang membentuk partikel-partikel yang

mempunyai diameter lebih besar dari $0.22 \mu\text{m}$ dan dalam jumlah yang banyak. Sehingga nilai NTU menjadi lebih tinggi dari pengencer semen yang sudah difiltrasi.

Teknik filtrasi pengencer semen ini menghasilkan tingkat kekeruhan yang lebih rendah jika dibandingkan dengan pengencer semen yang tidak disaring. Pengujian terhadap rata turbiditas pengencer semen yang difiltrasi adalah 26.9 NTU. Wujud dari pengencer semen tersebut tampak lebih jernih jika dibandingkan dengan pengencer semen sebelum difiltrasi. Kejernihan ini terbentuk karena pada pengencer semen yang difiltrasi hanya mengandung suspensi/koloid yang mempunyai diameter partikel-partikel $<0.22 \mu\text{m}$. Dengan partikel-partikel koloid/suspensi yang lebih kecil akan memberikan keuntungan keuntungan terhadap sel spermatozoa yang dikultur didalamnya.

BAB VI OPTIMASI PENGGUNAAN PENGECER SEMEN GPR- PRO SEBELUM DAN SESUDAH FILTRASI

6.1. Motilitas Spermatozoa

Pengamatan mikroskopis terhadap motilitas spermatozoa menunjukkan bahwa antara semen segar dan semen setelah diencerkan dengan pengencer GPR-PRO sebelum dan sesudah difiltrasi tertera pada Tabel 2.

Tabel 2. Motilitas Spermatozoa dengan Pengencer GPR-PRO Sebelum dan Sesudah Filtrasi

Pejantan	Motilitas (%)		
	Semen segar	Semen setelah diencerkan	
		Sebelum difiltrasi	Sesudah difiltrasi
1	68	50	60
2	65	45	45
3	68	50	60
4	65	55	60
5	68	50	55
6	66	55	60
7	67	50	55
8	65	45	50
Rata-rata	66.5	50	55.6

Terjadi penurunan persentase dari semen segar ke semen setelah diencerkan sebesar 14%. Penurunan motilitas yang cukup besar ini terjadi akibat dari turbiditas pengencer semen yang masih tinggi (47.06 NTU). Tingkat pergerakan maju sel spermatozoa dalam pengencer dipengaruhi oleh sifat-sifat fisik yang terdapat dalam pengencer semen. Sifat-sifat fisik tersebut adalah bahan-bahan kimia yang merupakan suspensi ataupun koloid yang terdiri dari partikel-partikel berukuran

besar. Sifat-sifat inilah yang berakibat menghambat pergerakan sel spermatozoa. Motilitas spermatozoa pada pengencer yang difiltrasi lebih baik (50 % vs 55.6 %). Karena pada pengencer yang difiltrasi, penghambat pergerakan maju sel spermatozoa menjadi berkurang. Penghambat pergerakan sel spermatozoa tersebut adalah partikel partikel atau suspensi koloidal yang berukuran lebih dari 0.22 μm telah berkurang akibat dilakukan filtrasi/penyaringan.

6.2. Viabilitas Spermatozoa

Pengamatan mikroskopis terhadap viabilitas spermatozoa menunjukkan bahwa antara semen segar dan semen setelah diencerkan dalam pengencer GPR-PRO sebelum dan sesudah difiltrasi tertera pada Tabel 3. Rata-rata viabilitas sel spermatozoa yang diberi pengencer GPR-PRO sebelum difiltrasi mencapai 379.3 menit, sedangkan yang tidak diberi pengencer hanya akan hidup kurang dari 19 menit.

Tabel 3. Viabilitas Spermatozoa dengan Pengencer GPR-PRO Sebelum dan Sesudah Filtrasi

Pejantan	Viabilitas (menit)		
	Semen segar	Semen setelah diencerkan	
		Sebelum difiltrasi	Sesudah difiltrasi
1	20	390	400
2	19	375	480
3	20	400	420
4	17	350	450
5	20	380	400
6	18	385	460
7	16	380	450
8	17	375	430
Rata-rata	18.3	379.3	436.2

Sel spermatozoa yang diencerkan mempunyai kemampuan hidup yang lebih lama ini akibat dari berbagai faktor, yaitu tersedianya nutrisi yang cukup dalam pengencer, temperatur lingkungan yang telah disesuaikan, kelembaban terjaga sehingga tidak terjadi penguapan cairan yang berlebihan dan sel spermatozoa berada pada molaritas serta pH pengencer yang stabil. Tingkat kekeruhan pengencer berpengaruh terhadap kecepatan *input* nutrisi yang berasal dari pengencer ke dalam sel spermatozoa melalui membran sel.

Sel pada umumnya, dalam memanfaatkan nutrisi dari luar sel salah satunya adalah dengan cara proses difusi pada membran sel. Proses difusi membran sel juga dipengaruhi oleh ukuran partikel partikel akibat suspensi/koloid baik dalam cairan ekstra sel maupun intra sel. Rata-rata viabilitas sel spermatozoa yang diencerkan dalam pengencer yang difiltrasi terbukti lebih lama jika dibandingkan dengan viabilitas sel spermatozoa yang diencerkan dalam pengencer yang sama tetapi tidak difiltrasi (436.2 menit vs 379.3 menit). Hal ini karena sel spermatozoa lebih mudah dan lebih cepat memanfaatkan kandungan nutrisi yang mempunyai partikel partikel lebih kecil dan lembut jika dibandingkan dengan pengencer yang tidak disaring. Partikel partikel yang lebih kecil ukurannya ($<0.22 \mu\text{m}$) dan bersifat lembut lebih banyak memberikan kemudahan terhadap membran sel spermatozoa dalam rangka memindahkan nutrisi dalam bentuk senyawa/suspensi koloid dari ekstra sel ke intra sel. Sehingga sel spermatozoa mempunyai ketahanan hidup yang lebih lama.

6.3. Abnormalitas Spermatozoa

Pengamatan mikroskopis terhadap abnormalitas spermatozoa menunjukkan bahwa antara semen segar dan semen setelah diencerkan dalam pengencer GPR-PRO sebelum dan sesudah difiltrasi tertera pada Tabel 4. Abnormalitas semen segar (18.7%) lebih baik daripada persyaratan minimum semen

yang baik (20%). Abnormalitas ini dikategorikan sebagai abnormalitas primer, karena terjadi sejak proses spermatogenesis hingga ejakulasi. Ketika semen segar diencerkan dengan pengencer GPR-PRO sebelum difiltrasi, abnormalitas meningkat sebesar 33.8%. Sifat-sifat suspensi-koloid memberikan kontribusi terhadap benturan yang terjadi pada pengencer semen sehingga terjadi tabrakan fisik sel spermatozoa satu sama lain.

Tabel 4. Abnormalitas Spermatozoa dengan Pengencer GPR-PRO Sebelum dan Sesudah Filtrasi

Pejantan	Abnormalitas (%)		
	Semen segar	Semen setelah diencerkan	
		Sebelum difiltrasi	Setelah difiltrasi
1	18	35	35
2	20	37	33
3	17	30	30
4	21	35	25
5	20	34	30
6	19	35	30
7	17	30	30
8	18	35	30
Rata-rata	18.7	33.8	30.7

Pengamatan mikroskopis menunjukkan bahwa abnormalitas sekunder muncul dengan adanya bagian ekor spermatozoa yang rusak, dan retakan pada membran sel spermatozoa. Persentase abnormalitas sel spermatozoa pada pengencer GPR-PRO setelah difiltrasi lebih rendah daripada sebelum difiltrasi (33.8% vs 30.7%). Frekuensi peristiwa tabrakan fisik antara sel-sel spermatozoa dalam pengencer GPR-PRO yang telah difiltrasi, lebih rendah dan lebih lemah dibandingkan dalam pengencer sebelum dilakukan filtrasi. Meskipun temuan menunjukkan bahwa abnormalitas diatas 30%, dalam kasus-kasus tertentu, abnormalitas sebesar 40% berada dalam kisaran yang dapat ditoleransi.

BAB VII

PENGARUH PENGGUNAAN PENGENCER SEMEN GPR-PRO PADA SEMEN KAMBING PERANAKAN ETAWA (PE) PADA BERBAGAI TARAF

7.1. Persentase Hidup Spermatozoa

Penambahan *Indigofera sp.* ke dalam pengencer berpengaruh terhadap persentase hidup sperma. Penambahan ekstrak daun *Indigofera sp.* sebesar 1% kedalam pengencer semen mampu menjaga persentase hidup spermatozoa sebesar 71,71%. Namun sebaliknya, penambahan ekstrak daun *Indigofera sp.* >1% dapat menurunkan persentase hidup spermatozoa. Hal ini diduga disebabkan oleh kandungan tannin sebagai zat anti nutrisi yang terdapat didalam ekstrak daun *Indigofera sp.* yang jika diberi berlebih akan menjadi toksit bagi sel spermatozoa. **Nutrien** yang terkandung dalam ekstrak *Indigofera sp.* yang diberikan ke dalam pengencer berupa protein dan karbohidrat (fruktosa) diindikasikan dapat menjaga presentase hidup sperma saat pengenceran. Kandungan rata-rata asam amino esensial pada *Indigofera sp.* yaitu sebesar 21,53% dengan kandungan asam amino tertinggi yaitu leusin sebesar 2,26%, dimana **leusin** merupakan asam amino esensial yang penting untuk proses metabolisme protein dalam sel. *Indigofera sp.* memiliki kandungan protein yang cukup tinggi yaitu sekitar 22 - 28% dibandingkan dengan leguminosa lainnya. Protein ini tersusun dari asam amino yang nantinya akan masuk ke sel pada sperma untuk membantu perpindahan partikel dari luar ke dalam dan terjadi proses **difusi** sehingga nutrisi pada pengencer akan masuk ke dalam sel spermatozoa dan dapat menjaga persentase hidup sel spermatozoa. Persen hidup sangat penting perannya dan berhubungan dengan kualitas semen lainnya. Kandungan karbohidrat berupa fruktosa (monosakarida) membantu menghasilkan ATP atau energi yang nantinya berfungsi untuk mengaktifkan fibril-fibril pada ekor spermatozoa untuk pergerakan, sehingga motilitas spermatozoa terjaga.

7.2. Motilitas Spermatozoa

Penambahan ekstrak daun *Indigofera sp.* sebesar 1% kedalam pengencer semen mempertahankan motilitas spermatozoa sebesar 39,8%. Hasil tersebut lebih baik dibandingkan motilitas spermatozoa yang diencerkan tanpa penambahan ekstrak daun *Indigofera sp* yaitu sebesar 39,25%. Namun, penambahan ekstrak daun *Indigofera sp.* dalam taraf yang lebih tinggi menunjukkan penurunan motilitas spermatozoa. Hal tersebut diduga karena tingkat kepekatan bahan pengencer yang semakin tinggi. Kepekatan yang cenderung lebih tinggi dapat membuat pergerakan spermatozoa lebih terhambat meskipun energi yang mungkin tersedia lebih banyak. Medium pengencer dengan konsentrasi yang pekat akan mengakibatkan pengencer menjadi *hypertonic* dan menyebabkan kerusakan pada membran sehingga akan mempengaruhi motilitas spermatozoa. Motilitas yang rendah juga dapat disebabkan oleh terganggunya fisiologis membran plasma yang mengalami peroksidasi lipid dan adanya radikal bebas dalam bentuk *reactive oxygen species* (ROS). Membran spermatozoa terdiri dari protein dan lipid sebagai penyusun membran. Bagian membran plasma spermatozoa terdiri dari 40% lipid (65% fosfolipid, 25% kolesterol dan 10% lipid lainnya) dan 60% protein. Peroksidasi lipid akan terjadi pada spermatozoa dari mulai **ejakulasi**, pengenceran hingga penyimpanan yang dapat merusak membran plasma sel.

Asam lemak tak jenuh yang terdapat pada membran plasma, dapat dimungkinkan rentan mengalami peroksidasi lipid. Membran plasma yang mengalami peroksidasi lipid akan membuat tekanan osmotik di dalamnya menjadi terganggu dapat mempengaruhi kerusakan akrosom pada spermatozoa. Kerusakan akrosom pada spermatozoa akan menyebabkan metabolisme sel terhambat hingga kematian spermatozoa. Kerusakan akrosom akibat membran yang rusak oleh peroksidasi lipid akan mempengaruhi fertilitas dan pergerakan spermatozoa. Pergerakan spermatozoa yang terganggu maka akan menurunkan persentase motilitas spermatozoa. Adanya

radikal bebas dalam bentuk ROS juga dapat merusak membran sel dan lebih khususnya pada mitokondria. Mitokondria dengan kondisi membran yang rusak akan mengganggu fungsi fisiologis maupun biokimiawinya. Selain itu, pergerakan sperma akan ikut terhambat karena letak mitokondria yang ada pada ekor sperma. Pergerakan ekor yang terhambat maka juga menyebabkan persentase motilitas menjadi menurun. Keberadaan radikal bebas dalam bentuk ROS akan mengakibatkan rusaknya membran mitokondria pada sel, sehingga proses sintesis ATP menjadi menurun. Metabolisme sel yang terhambat menyebabkan daya gerak spermatozoa juga terhambat sehingga angka motilitas spermatozoa menjadi turun.

Salah satu perlakuan yang mampu menekan terjadinya peroksidasi lipid adalah dengan penggunaan bahan pengencer yang mampu mencukupi kebutuhan fisik dan kimia spermatozoa dan melindungi membran sel dari adanya peroksidasi lipid. Zat dalam bahan pengencer yang dapat memberikan fungsi tersebut adalah zat antioksidan. Antioksidan dalam bahan pengencer dapat memutus rantai peroksidasi lipid pada membran plasma sel, sehingga kerusakan pada membran dapat terhambat dan integritas membran dapat terjaga. *Indigofera sp.* yang ditambahkan dalam *stock solution* mengandung kandungan nutrisi yang dimungkinkan membantu mencegah dan menahan peristiwa peroksidasi lipid. Kandungan dalam *Indigofera sp.* terdapat 0,22% fenol; 0,14% flavonoid dan sedikit saponin. Kandungan antioksidan dalam *Indigofera sp.* tersebut dapat menghambat peroksidasi lipid dengan mengikat radikal bebas hasil reaksi oksigen bebas di udara dengan asam lemak tak jenuh yang terdapat pada membran plasma sel.

Radikal bebas yang bereaksi dengan oksigen akan menghasilkan senyawa peroksida aktif. Tidak adanya antioksidan dalam asam lemak, akan terbentuk reaksi antara peroksidasi dengan ikatan rangkap lemak. Namun, apabila terdapat antioksidan maka peroksidasi tersebut tidak langsung bereaksi dengan ikatan rangkap lemak, sehingga peroksidasi aktif dapat dihambat. Peroksidasi yang terhambat maka akan mempengaruhi kondisi membran plasma menjadi lebih utuh dan

metabolisme menjadi lebih baik. Kandungan antioksidan dalam *Indigofera sp.* yang ditambahkan pada *stock solution* mampu membantu mempertahankan motilitas spermatozoa agar tidak mengalami penurunan yang drastis. Motilitas spermatozoa dapat dipengaruhi juga oleh ketersediaan energi dalam bahan pengencer dalam bentuk ADP dan ATP yang berasal dari glukosa dan fruktosa. Angka motilitas paling tinggi pada penambahan *Indigofera sp.* sebanyak 1% menunjukkan ketersediaan energi yang berasal dari glukosa dalam *stock solution* yang disuplementasi glukosa dalam *Indigofera sp.* mampu menambah cadangan energi yang berasal dari dalam (plasma semen). Suplementasi energi yang berasal dari luar dapat membantu aktivitas fisiologis spermatozoa termasuk pergerakan spermatozoa, dimana energi luar yang dapat ditambahkan berasal dari karbohidrat dan lemak.

7.3. Abnormalitas Spermatozoa

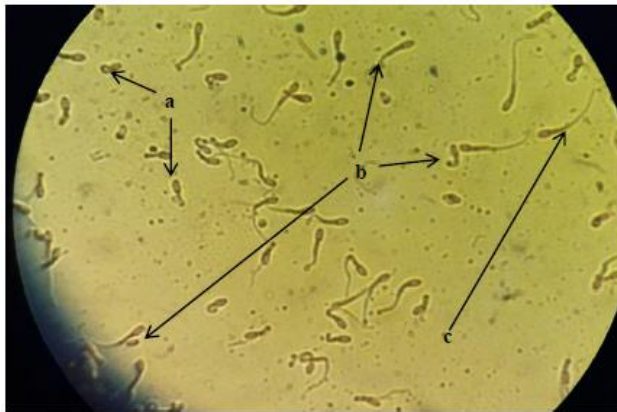
Penambahan *Indigofera sp.* dalam pengencer semen dengan taraf 1% mampu menahan tingkat abnormalitas spermatozoa sebesar 22,52% dibandingkan tanpa penambahan *Indigofera sp.* yaitu sebesar 27,13%. Hal tersebut disebabkan oleh adanya kandungan antioksidan berupa fenol dan flavonoid. Antioksidan pada *Indigofera sp.* akan memutus reaksi peroksidasi pada ikatan rantai lipid pada membran plasma, sehingga membran plasma dapat terlindungi dan abnormalitas dapat terhambat. Tingginya kandungan protein kasar sebesar 27,9% yang terdapat dalam *Indigofera sp.* dimungkinkan dapat dimanfaatkan sebagai tambahan protein untuk krioprotektan ekstraseluler pada semen kambing sehingga tingkat abnormalitas spermatozoa dapat dihambat akibat perubahan tekanan osmotik. Sehingga, penambahan *Indigofera sp.* sebanyak 1% dalam pengencer semen dapat mempertahankan angka abnormalitas sedikit lebih baik dibanding penggunaan bahan pengencer tanpa adanya *Indigofera sp.*

Abnormalitas spermatozoa disebabkan oleh adanya kerusakan membran akibat preservasi proses pengenceran. Abnormalitas spermatozoa akan semakin meningkat selama preservasi dan penyimpanan. Bentuk abnormalitas yang ditemui adalah ekor melingkar dan ekor terputus. Morfologi spermatozoa yang abnormal ketika pengamatan dapat berasal dari proses pembentukan dalam tubulus seminiferi dan kelainan spermatozoa ketika meninggalkan epididimis hingga diejakulasikan. Kelainan atau bentuk abnormal spermatozoa dapat bertambah dengan adanya preservasi. Namun, rentang kenaikan abnormalitas spermatozoa tidak terlalu drastis yang dimungkinkan sebagai akibat kandungan antioksidan dalam *Indigofera sp.* dapat membantu menghambat peningkatan kadar fosfolipid pada membran spermatozoa, sehingga *reactive oxygen species* (ROS) juga terhambat. ROS pada semen memiliki kadar yang rendah apabila reaksi peroksidasi dengan fosfolipid yang ada pada lipid membran spermatozoa juga rendah, sehingga membran sperma tidak mengalami kerusakan yang merupakan salah satu faktor keabnormalan spermatozoa.

Peristiwa peroksidasi lipid pada membran plasma sel mengakibatkan kerusakan pada fisiologis, morfologi serta biokimia sel. Kerusakan pada membran sel akibat peroksidasi lipid akan berdampak pada kerusakan akrosom spermatozoa. Proses peroksidasi lipid yang telah terjadi sebelum spermatozoa diencerkan dapat mengakibatkan abnormalitas primer terjadi. Penambahan *Indigofera sp.* dalam *stock solution* mampu menahan tingkat abnormalitas dibandingkan tanpa penambahan *Indigofera sp.* oleh adanya kandungan antioksidan berupa fenol dan flavonoid. Antioksidan pada *Indigofera sp.* akan memutus **reaksi peroksidasi** pada ikatan rantai lipid pada membran plasma, sehingga membran plasma dapat terlindungi dan **abnormalitas** dapat terhambat.

Faktor lain yang dapat mempengaruhi abnormalitas ekor putus, melingkar maupun kepala patah adalah perubahan **tekanan osmotik** pada bahan pengencer. Perubahan osmotik pada media spermatozoa dapat mempengaruhi daya hidup spermatozoa serta perubahan tekanan yang tinggi dapat

mengakibatkan spermatozoa menjadi pecah. Tekanan dari bahan pengencer yang terlalu tinggi dapat menarik air dari dalam sel spermatozoa. **Dehidrasi** yang dialami sel spermatozoa mengakibatkan kerusakan pada membran plasma, sehingga organel lainnya juga terganggu. Penggunaan bahan pengencer dengan kandungan *Indigofera sp.* di dalamnya mampu mempertahankan angka abnormalitas sedikit lebih baik dibanding penggunaan bahan pengencer tanpa adanya *Indigofera sp.* Artinya, **abnormalitas primer** yang terjadi sebelum semen diejakulasikan yang dimungkinkan akibat **peroksidasi lipid** dari dalam dapat dihambat kenaikannya agar tidak terjadi **abnormalitas sekunder** yang besar. Abnormalitas sekunder yang terjadi juga dapat disebabkan oleh perubahan tekanan osmotik pada media pengencer. Fungsi pengencer sebagai pelindung membran sel berasal dari kandungan protein yang ada didalam pengencer.



Ilustrasi 5. Abnormalitas Primer Ekor Melingkar (A);
Abnormalitas Sekunder Ekor Terputus (B) dan Spermatozoa
Normal (C)

Abnormalitas sekunder yang disajikan pada Ilustrasi 5 diduga terjadi akibat proses ejakulasi dan preparasi. Preparasi yang mengakibatkan terjadinya abnormalitas sekunder yaitu pembuatan ulas preperat. Abnormalitas sekunder yang terjadi

seperti ekor putus atau kepala patah diakibatkan adanya preparasi pembuatan ulas dan dimungkinkan akibat ejakulasi yang kurang sempurna sehingga ekor spermatozoa menjadi terputus.

7.4. Viabilitas Spermatozoa

Penambahan *Indigofera sp.* dalam pengencer semen dengan taraf yang berbeda direspon secara seragam dalam mempertahankan kualitas semen dan mempertahankan viabilitas sel spermatozoa. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan pengencer semen dengan penambahan larutan *Indigofera sp.* dalam berbagai taraf, sama-sama dapat menyediakan nutrisi yang diperlukan spermatozoa sehingga dapat digunakan untuk mempertahankan daya hidup spermatozoa. Bahan pengencer yang baik yaitu memiliki fungsi sebagai penyedia nutrisi untuk spermatozoa, pelindung akibat pendinginan, melindungi akibat perubahan pH, mengatur keseimbangan dan menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen.

Viabilitas spermatozoa kambing yang diberi pengencer semen dengan penambahan 1% larutan *Indigofera sp.* paling lama yaitu 342 menit sedangkan viabilitas spermatozoa yang diberi pengencer semen dengan penambahan 2%, 3% dan tanpa larutan *Indigofera sp.* secara berturut-turut 276 menit, 306 menit dan 336 menit. Penambahan *Indigofera sp.* dalam pengencer semen mampu melindungi membran plasma yang ada di bagian kepala spermatozoa sehingga mampu mempertahankan gerakan sitoplasma agar tetap progresif. Proses metabolisme sel sperma menghasilkan reaksi peroksidatif lipid apabila bereaksi dengan radikal bebas. Peroksidasi lipid dapat mengubah struktur sel spermatozoa serta merusak selubung lipoprotein sehingga menyebabkan mantel pelindung sperma menjadi pecah sehingga berakibat pada kerusakan organel-organel sel spermatozoa. Apabila organel-organel sel sperma rusak, seperti mitokondria maka berakibat pada rantai oksidasi akan terputus dan proses metabolisme menjadi terhambat kemudian sel spermatozoa mati.

Kandungan antioksidan dalam *Indigofera sp.* berguna untuk meredam reaksi radikal bebas atau senyawa pengoksidasi dan berperan untuk meminimalkan terjadinya reaksi-reaksi oksidasi. *Indigofera sp.* mengandung zat anti nutrisi antara lain tanin, saponin, alkaloid, flavonoid, *carbohydrate glycosides*, terpenoid, steroid dan indospicin. Antioksidan dalam *Indigofera sp.* berupa vitamin A, D, E, K, bahan aktif berupa beta karoten serta kandungan asam amino berupa lisin 1,57% dan metionin 0,43%. Antioksidan berperan penting dalam penetralan radikal bebas atau menangkal reaksi oksidasi akibat radikal bebas yang dapat mengakibatkan kerusakan asam lemak tak jenuh, membran dinding sel, pembuluh darah, basa DNA dan jaringan lipid. Spermatozoa dengan membran plasma yang masih utuh menunjukkan persen hidup tinggi dan viabilitas spermatozoa menjadi meningkat.

Pengaruh pengenceran semen dengan penambahan larutan *Indigofera sp.* dalam berbagai taraf menunjukkan penurunan selama penyimpanan pada suhu 37°C. Hal itu diduga karena akumulasi asam laktat dari sisa metabolisme menjadi semakin tinggi seiring berjalannya waktu sehingga menyebabkan kerusakan membran semen yang berakibat pada penurunan daya hidup sperma. Metabolisme spermatozoa dapat menghasilkan asam laktat dan penurunan pH semen sehingga dapat mengakibatkan penurunan motilitas dan kematian bagi spermatozoa. Asam laktat yang tinggi dapat menurunkan pH dan meningkatkan konsentrasi elektrolit sehingga tekanan osmotik pada plasma menjadi tinggi akibat cairan dalam sel keluar menuju cairan pengencer dan dapat merusak permeabilitas membran sel. pH semen yang menurun akibat peningkatan jumlah asam laktat dapat mempengaruhi tekanan osmotik pada plasma semen sehingga menyebabkan permeabilitas membran spermatozoa menjadi menurun dan kerusakan pada membran menjadi meningkat serta dapat mempengaruhi kemampuan gerak sel spermatozoa.

Penggunaan pengencer semen dengan penambahan larutan *Indigofera sp.* dalam berbagai taraf, sama-sama dapat melindungi membran plasma dan menyediakan zat-zat nutrisi

yang diperlukan sel spermatozoa sehingga dapat digunakan untuk mempertahankan daya hidup spermatozoa. Akan tetapi penambahan larutan *Indigofera sp.* dengan taraf 1% kedalam pengencer merupakan perlakuan terbaik dan memiliki kandungan nutrisi yang lebih lengkap sehingga dapat mempertahankan viabilitas hingga 342 menit (5,7 jam). Waktu minimum untuk proses kapasitasi adalah 2 jam yaitu waktu yang digunakan spermatozoa untuk berpindah menuju tempat pembuahan.

7.5. Membran Plasma Utuh Spermatozoa

Penambahan *Indigofera sp.* ke dalam pengencer pada berbagai taraf tidak berpengaruh terhadap **membran plasma utuh** sperma (MPU). Hal tersebut menunjukkan bahwa pengencer yang ditambahkan ekstrak *Indigofera sp.* masuk melewati MPU dan masih dapat diterima sehingga tidak menimbulkan efek negatif bagi sperma. MPU memiliki fungsi sebagai pelindung sperma, tempat keluar masuknya nutrisi, sebagai reseptor dan penyeleksi nutrisi. Terjadi proses osmotik di dalam sel yang dipisahkan oleh membran dimana larutan bertekanan rendah masuk ke dalam larutan yang memiliki tekanan lebih tinggi. Kandungan berupa flavonoid (antioksidan) pada *Indigofera sp.* yang merupakan senyawa bioaktif membantu memperbaiki sel yang rusak akibat radikal bebas sehingga membran tetap terjaga keutuhannya dengan mengikat radikal bebas yang disebabkan oleh peroksidasi lipid di dalam membran sel.

7.6. Tudung Akrosom Utuh

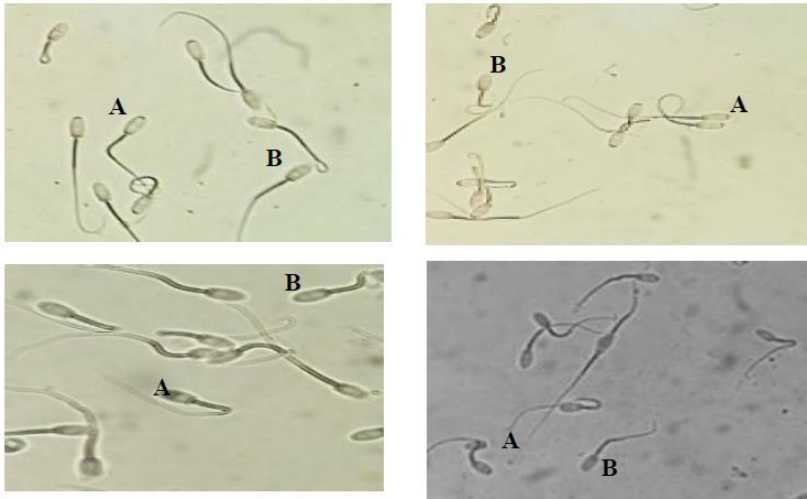
Penambahan *Indigofera sp.* kedalam pengencer semen dengan berbagai dosis memberikan pengaruh yang sama terhadap tudung akrosom utuh spermatozoa. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan *Indigofera sp.* kedalam

pengencer semen dapat mempertahankan keutuhan tudung akrosom melalui perlindungan membran sel dari kerusakan. Proses metabolisme spermatozoa menghasilkan reaksi peroksidatif lipid apabila bereaksi dengan radikal bebas. Peroksidasi lipid dapat mengubah struktur sel sperma sehingga menyebabkan mantel pelindung kepala sperma pecah dan berakibat pada rusaknya tudung akrosom utuh spermatozoa.

Penambahan *Indigofera sp.* dalam pengencer semen dengan taraf 1% dapat mempertahankan TAU sebesar 44,9%, sedangkan penambahan *Indigofera sp.* dalam pengencer dengan penambahan taraf 2% paling pendek yaitu 41,12%, kemudian spermatozoa yang diberi pengencer semen tanpa penambahan *Indigofera sp.* sebesar 42,63% dan pengencer semen dengan penambahan 3% *Indigofera sp.* sebesar 44,56%. *Indigofera sp.* memiliki kandungan zat aktif yang berguna untuk meredam reaksi radikal bebas serta meminimalkan terjadinya reaksi-reaksi oksidasi dan kerusakan pada membran plasma spermatozoa. Antioksidan dalam *Indigofera sp.* berupa vitamin A, D, E, K, bahan aktif berupa beta karoten serta kandungan asam amino berupa lisin 1,57% dan metionin 0,43%. Antioksidan dalam pengencer berguna untuk mempertahankan metabolisme sel serta mengatasi laju kerusakan membran sel akibat peroksidasi lipid. Spermatozoa dengan membran plasma utuh menunjukkan bahwa persen hidup dan viabilitas tinggi sehingga menandakan bahwa tudung akrosom dan organel sel didalamnya terlindungi. Kandungan zat aktif yang ada dalam *Indigofera sp.* pada berbagai taraf yang diberikan tidak menimbulkan efek negatif bagi spermatozoa.

Membran plasma sel spermatozoa tersusun dari protein dan fosfolipid serta akan menggunakan mekanisme tertentu untuk mencegah kerusakan pada membran karena kedua komponen tersebut rentan terhadap oksidasi. *Indigofera sp.* mengandung zat anti nutrien berupa tannin, saponin, alkaloid, flavonoid, *carbohydrate glycosides*, terpenoid, steroid dan indospicine. Kandungan flavonoid, saponin dan tanin memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri, virus dan jamur sehingga

dapat meningkatkan daya tahan spermatozoa terhadap infeksi dan memelihara membran mukosa. Tudung akrosom spermatozoa utuh dan tidak utuh semen kambing PE setelah diencerkan dengan pengencer semen dan penambahan *Indigofera sp.* berbagai taraf dapat dilihat pada Ilustrasi 6.



Ilustrasi 6. Tudung Akrosom Utuh (A) dan Tudung Akrosom Tidak Utuh (B)

Kualitas tudung akrosom utuh yang rendah dapat disebabkan akibat pengaruh kimiawi dalam media pengencer serta pengaruh mekanik seperti gesekan dengan partikel pengencer atau dengan dinding tabung. Selain itu, kerusakan tudung akrosom dapat berasal dari abnormalitas primer atau berasal dari kegagalan dalam proses spermatogenesis berupa aparatus golgi dari spermatid yang tidak membentuk tudung akrosom. Penggunaan pengencer semen dengan penambahan *Indigofera sp.* dalam berbagai dosis, dapat melindungi membran plasma sel spermatozoa sehingga dapat digunakan untuk mempertahankan tudung akrosom dan spermatozoa dapat melakukan proses fertilisasi.

7.7. Hubungan antara Persentase Hidup dan Membran Plasma Utuh

Persentase hidup dan membran plasma saling terkait satu sama lain. Persentase hidup yang baik salah satunya ditentukan dari keutuhan membran plasma yang dimiliki spermatozoa. Meskipun jika suatu membran sel mengalami kerusakan, belum tentu sel spermatozoa tersebut mati. Jika membran plasma yang dimiliki sperma kurang baik atau rusak, maka dapat mengurangi jumlah sperma yang hidup. Membran memiliki peran yang sangat penting dan berguna untuk mempertahankan persentase hidup sperma saat diberi pengencer. Fungsi dari membran plasma yang utuh sangat penting dalam proses metabolisme spermatozoa, seleksi nutrisi yang akan masuk ke dalam sel sperma, reaksi akrosom. Di sel terdapat proses osmotik yaitu tekanan untuk menyeimbangkan larutan di luar sel dan dalam sel yang di pisahkan oleh membran sehingga tekanan di dalam dan diluar sel tetap dan bentuk sel normal.

7.8. Hubungan antara Motilitas dan Abnormalitas

Hubungan antara motilitas dan abnormalitas akibat penambahan *Indigofera sp.* dalam *stock solution* dibuktikan dengan hasil analisis uji korelasi Pearson diketahui bahwa tidak ada hubungan bolak balik antara motilitas dan abnormalitas spermatozoa. Nilai korelasi yang dihasilkan dari analisis uji adalah sebesar $-0,224$ yang berarti ada hubungan tidak searah antara motilitas dan abnormalitas spermatozoa. Artinya, apabila nilai motilitas tinggi maka nilai abnormalitas akan rendah (kecil). Penambahan ekstrak daun *Indigofera sp.* sebesar 1% mampu mempertahankan motilitas lebih baik dibandingkan perlakuan dengan penambahan ekstrak daun *Indigofera sp.* >1% dan tanpa penambahan ekstrak daun *Indigofera sp.* dan yaitu sebesar 39,8% serta mampu menghambat abnormalitas paling baik dibanding perlakuan yang lain yaitu sebesar 22,52%. Hal

ini menunjukkan, kualitas semen yang diencerkan dengan penambahan ekstrak daun *Indigofera sp.* sebesar 1% dalam pengencernya paling baik dibandingkan dengan kualitas semen yang diencerkan dengan penambahan ekstrak daun *Indigofera sp.* >1% dan tanpa penambahan ekstrak daun *Indigofera sp.* dalam pengencernya, dimana memiliki nilai abnormalitas paling rendah dan motilitas yang paling tinggi. Kondisi ini menunjukkan bahwa membran sel spermatozoa pada perlakuan penambahan ekstrak daun *Indigofera sp.* 1% dalam pengencer, memiliki kondisi yang lebih terjaga akibat adanya kandungan antioksidan yang cukup yang terdapat dalam *Indigofera sp.* Nilai korelasi $0,2 - < 0,4$ dalam angka positif atau negatif menunjukkan adanya hubungan yang rendah dari variabel-variabel yang diuji. Hubungan tidak searah antara motilitas dan abnormalitas dapat diartikan apabila persentase motilitas tinggi maka angka abnormalitas akan kecil/rendah. Nilai motilitas yang tinggi dan nilai abnormalitas lebih rendah menunjukkan kualitas spermatozoa masih dapat dipertahankan.

BAB VIII

TINGKAT KEBERHASILAN INSEMINASI BUATAN MENGGUNAKAN PENGECER GPR-PRO

Pengencer GPR-PRO diujikan dengan melakukan inseminasi semen segar hasil pengenceran kepada sejumlah kambing betina yang sebelumnya sudah dilakukan sinkronisasi birahi. Dua bulan setelah dilakukan inseminasi, kemudian dilakukan pemeriksaan kebuntingan. Hasil pemeriksaan kebuntingan tertera pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Pemeriksaan Kebuntingan

Perlakuan*	Jumlah Akseptor (Sinkronisasi)	Bunting (%)
T0	12	3 (25.00%)
T1	12	7 (58.33%)
T2	12	9 (75.00%)

*T0 : *stock solution*; T1 : *stock solution* + 0.5% *Indigofera sp.*;
T2 *stock solution* + 1% *Indigofera sp.*

Hasil menunjukkan bahwa semen segar yang diencerkan dengan menggunakan pengencer GPR-PRO (mengandung 0.5% dan 1% *Indigofera sp.*) menghasilkan persentase kebuntingan yang lebih tinggi. Terjadinya kebuntingan pada kambing betina yang dikawinkan secara IB tidak terlepas dari kualitas semen yang dipergunakan untuk inseminasi, terutama motilitas spermatozoa saat semen akan diinseminasikan. Semen kambing yang diencerkan dengan pengencer GPR-PRO dengan penambahan *Indigofera sp.* 0.5 dan 1% ternyata mempunyai kemampuan membuahi yang lebih baik dibandingkan dengan pengencer yang tidak ditambah dengan *Indigofera sp.* Kandungan karbohidrat (fruktosa) pada *Indigofera sp.* dapat menghasilkan ATP atau sebagai sumber energy dan pada sel spermatozoa yang berfungsi mengaktifkan fibril-fibril pada bagian ekor untuk pergerakan, sehingga semen yang diencerkan dengan pengencer T0 mengakibatkan motilitas menjadi

menurun dan keberhasilan kebuntingannya lebih rendah daripada semen yang diencerkan menggunakan GPR-PRO.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, L. and Suharlina. 2010. Herbage yield and quality of two vegetative parts of *Indigofera* at different time of first regrowth defoliation. *Media Peternakan*. 33:44 – 49.
- Abdullah L. 2010. Herbage production and quality of shrub *Indigofera* treated by different concentration foliar fertilizer. *Media Peternakan*. 33(3): 169 – 175
- Adipu. Y., H. Sinjal dan J. Watung. 2011. Ratio pengenceran spermatozoa terhadap motilitas spermatozoa, fertilitas dan daya tetas ikan Lele (*Clarias sp.*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan Tropis*. 7 (1): 48 – 55.
- Afiati, A., Herdis dan S. Said, 2013. Pembibitan Ternak dengan Inseminasi Buatan. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Aini, K., S. Suharyati dan M. Hartono. 2014. Pengaruh jarak *straw* dengan nitrogen cair pada proses *pre freezing* terhadap kualitas semen beku sapi Limousin. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*. 2 (3): 62 – 70.
- Arifiantini, R. I., B. Purwantara and M. Riyadhi. 2010. Occurrence of sperm abnormality of beef cattle at several Artificial Insemination Centers in Indonesia. *Animal Production*, 12 (1): 44 – 49.
- Arsiwan, T. Saili, L. O. Baa dan S. Rahadi. 2014. Membran plasma utuh spermatozoa epididymis kambing Peranakan Etawa dalam natrium klorida dengan konsentrasi berbeda. *Jurnal Ilmu dan Peternakan Tropis*. 1(1): 79 – 87.
- Azzahra, F. Y., E. T. Setiatin dan D. Samsudewa. 2016. Evaluasi motilitas dan persentase hidup semen segar sapi PO kebumen pejantan muda. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*. 11 (2): 99 – 107.

- Balai Inseminasi Buatan Ungaran. 2005. Petunjuk Teknis Pembuatan Semen Beku Kambing Peranakan Ettawa. Dinas Peternakan Provinsi Jawa Tengah, Ungaran.
- Bebas, W., G. L. Buyona dan M. K. Budiasa. 2016. Penambahan vitamin E pada pengencer BTS® terhadap daya hidup dan motilitas spermatozoa babi Landrace pada penyimpanan 15°C. Buletin Veteriner Udayana. 8 (1): 1 – 7.
- Cahyadi, T. R. T., M. Christiyanto dan E. T. Setiatin. 2016. Persentase hidup dan abnormalitas sel spermatozoa kambing Peranakan Etawah (PE) dengan pakan yang disuplementasi daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten. Steenis)). Animal and Agriculture Journal. 5 (3): 23 – 32.
- Cahyani, P., Y. S. Ondho dan D. Samsudewa. 2020. Pengaruh tarum (*Indigofera zollingeriana*) dalam pengencer semen terhadap viabilitas dan tudung akrosom utuh pada spermatozoa kambing Peranakan Etawah. Jurnal Sain Peternakan. (In Press)
- Danang, D. R., N. Isnaini dan P. Trisunuwati. 2012. Pengaruh lama simpan semen terhadap kualitas spermatozoa Ayam Kampung dalam pengencer *Ringer's* pada suhu 4°C. J. Ternak Tropika. 13 (1): 47 – 57.
- Effendy, F. I., S. Wahjuningsih dan M. N. Ihsan. 2015. Pengaruh pengencer tris aminomethane kuning telur yang disuplementasi sari kulit Manggis (*Garcinia mangostana*) terhadap kualitas semen sapi Limousin selama penyimpanan suhu dingin 50°C. Jurnal Ilmu-ilmu Peternakan. 25 (3): 69 – 79.
- Garner, D. L. dan E. S. E. Hafez. 1993. Spermatozoa and Seminal Plasma. In; Reproduction in Farm Animals. 6th Ed. Lea & Febiger, Philadelphia.
- Hafez, E. S. E. 1987. Reproduction in Farm Animals. 4th Edition. Lea and Febiger, Philadelphia.

- Hafsari, N. 2014. Kajian Abnormalitas Primer Spermatozoa pada Beberapa Bangsa Sapi dengan Umur Berbeda Menggunakan Pewarnaan Carbofuchsin (Williams). Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, Bogor (Skripsi).
- Hartono, M. 2008. Optimalisasi penambahan vitamin E dalam pengencer sitrat kuning telur untuk mempertahankan kualitas semen kambing Boer. *Animal and Agriculture Journal*. 33 (1): 11 – 19.
- Hastuti, A. W., D. Samsudewa dan E. T. Setiatin. 2020. Pengaruh penambahan *Indigofera zollingeriana* dalam stock solution terhadap motilitas dan abnormalitas spermatozoa kambing Peranakan Etawa (PE). *Jurnal Sain Peternakan* (In Press)
- Herdiawan I. 2013. Pertumbuhan tanaman pakan ternak leguminosa pohon *Indigofera zollingeriana* pada berbagai taraf perlakuan cekaman kekeringan. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*. 18 (4): 258 – 264.
- Herdiawan, I. dan R. Krisnan. 2014. Produktivitas dan pemanfaatan tanaman leguminosa pohon *Indigofera zollingeriana* pada lahan kering. *Wartazoa*. 24 (2): 75 – 82.
- Herdiawan, I., L. Abdullah dan D. Sopandi. 2014. Status nutrisi hijauan *Indigofera zollingeriana* pada berbagai taraf perlakuan stres kekeringan dan interval pemangkasan. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*. 19 (2): 91 – 103.
- Ihsan, M. N. 2011. Penggunaan telur itik sebagai pengencer semen kambing. *Jurnal Ternak Tropika*. 12 (1): 10 – 14.
- Jiyanto. 2011. Motilitas dan Mortalitas Spermatozoa Sapi Bali yang Diencerkan dengan Pengencer Kuning Telur pada Volume Pengenceran yang Berbeda di BIBD Tuah Sakato Payakumbuh. Fakultas Pertanian dan Peternakan Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim, Riau (Skripsi).

- Kurniawan, B. dan W. F. Aryana. 2015. Binahong (*Anredera cordifolia*) as inhibitor of *Escherichia coli* growth. *Jurnal Majority*. 4 (4): 100 – 104.
- Mas, I. K. G. Y. dan W. D. Prastiwi. 2016. *Biometrika Peternakan*. Media Inspirasi Semesta, Semarang.
- Mumu, M. I. 2009. Viabilitas semen sapi Simental yang dibekukan menggunakan krioprotektan gliserol. *Jurnal Agroland*. 16 (2): 172 – 179.
- Myre, E. and R. Shaw. 2006. *The Turbidity Tube: Simple and Accurate Measurement of Turbidity in the Field*. Michigan Technology University, Michigan.
- Ondho, Y. S., E. T. Setiatin, D. Samsudewa, Sutyono, A. Suryawijaya and D. A. Lestari. 2019. Optimization of Semen Diluents Using Filtration Technique Enriched with *Indigofera sp.* Leaf extract. *International Journal of Veterinary Science*. 8(4): 213 – 217.
- Palupi, R., L. Abdullah, D. A. Astuti, dan Sumiati. 2014. Potensi dan pemanfaatan tepung pucuk *Indigofera sp.* sebagai bahan pakan substitusi bungkil kedelai dalam ransum ayam petelur. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*. 19 (3): 210 – 219.
- Parimal, M. P. and S. S. Anil. 2011. Sperm abnormalities and its treatment. *International Journal of Pharmacy*. 2 (11): 46 – 49.
- Partodihardjo, S. 1980. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Mutiara, Jakarta.
- Pradana, S. B., Y. S. Ondho dan D. Samsudewa. 2016. Penambahan sari kacang hijau pada tris sebagai bahan pengencer terhadap motilitas, daya hidup dan abnormalitas spermatozoa Sapi Kebumen. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*. 11 (2):134 – 140.
- Pramono, E. dan T.R. Tagama. 2008. Pengaruh penambahan adenosin triphosphat ke dalam pengencer semen

terhadap kualitas spermatozoa domba ekor gemuk. *Animal Production*. 10 (3): 151–156.

- Pubiandara, S., S. Suharyati dan M. Hartono. 2016. Pengaruh penambahan dosis rafinosa dalam pengencer sitrat kuning telur terhadap motilitas, persentase hidup dan abnormalitas spermatozoa sapi Ongole. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*. 4 (4): 292 – 299.
- Puteri, T. H., E. T. Setiatin dan Y. S. Ondho. 2019. Pengaruh *Indigofera* sp. sebagai suplemen pengencer semen terhadap persentase hidup dan membrane plasma utuh spermatozoa kambing Peranakan Etawa. Seminar Nasional Sumber Daya Pertanian Berkelanjutan dalam Mendukung Ketahanan dan Keamanan Pangan pada Era Revolusi Industri 4.0. 3 (1): 108 – 113.
- Rahardhianto A., N. Abdulgani, dan N. Trisyani. 2012. Pengaruh konsentrasi larutan madu dalam NaCl fisiologis terhadap viabilitas dan motilitas spermatozoa ikan Patin (*Pangasius pangasius*) selama masa penyimpanan. *Jurnal Sains dan Seni*. 1 (1): 58 – 63.
- Ratih, Y. W., P. B. Santosa dan E. Muryani. 2016. Pengaruh limbah industri batik menggunakan pewarna alami dari desa Wukirsari terhadap viabilitas bakteri tanah. *Jurnal Eksergi*. 13 (2): 7 – 13.
- Ridwan. 2009. Pengaruh pengencer semen terhadap abnormalitas dan daya tahan hidup spermatozoa kambing lokal pada penyimpanan suhu 5°C. *Jurnal Agroland*. 16 (20): 187 – 192.
- Riyadhi, M., R. I. Arifiantini dan B. Purwantara. 2012. Korelasi morfologi abnormalitas primer spermatozoa terhadap umur pada beberapa bangsa sapi potong. *Jurnal Veteriner*. 19 (2): 79 – 85.
- Rizal, M. 2006. Pengaruh penambahan laktosa di dalam pengencer tris terhadap kualitas semen cair domba

- Garut. *Jurnal Pengembangan Peternakan Tropis*. 31 (1): 224 – 231.
- Romadhoni, I., A. Rachmawati dan Suyadi. 2014. Kualitas semen sapi Madura setelah pengenceran dengan tris *aminomethane* kuning telur yang disuplementasi α -*tocopherol* pada penyimpanan suhu ruang. *Jurnal Ilmu-ilmu Peternakan*. 24 (1): 39 – 44.
- Rophi, A. H., S. Rahayu dan G. Ciptadi. 2018. The effect of *Morinda citrifolia* L. fruit extract supplemented to delucent tris-egg yolk toward the abnormality of goat's spermatozoa after freezing at -80°C. *Experiment of Life Science Journal*. 8 (3): 145 – 152.
- Salim, M. A., T. Susilawati dan S. Wahyuningsih. 2012. Pengaruh metode *thawing* terhadap kualitas semen beku sapi Bali, sapi Madura dan sapi PO. *Agripet*. 12 (2): 14 – 19.
- Samsudewa, D. dan A. Lukman. 2006. Penggunaan DEEA Gesdect sebagai alternative deteksi kebuntingan ternak. Materi Bahan Deteksi Kebuntingan Ternak "DEEA GestDect" Di Perusahaan Susu Sapi Charisma Tulungagung, Jawa Timur 11 Januari 2006. Documentasi Jurusan Produksi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro. (Unpublished).
- Samsudewa, D., M. I. S. Wuwuh, dan Y. S. Ondho. 2007. Pengaruh jumlah spermatozoa per inseminasi terhadap kualitas semen beku semen kambing Peranakan Etawah. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner, Semarang. 462 – 468.
- Setiono, N., S. Suharyati dan P. E. Santosa. 2015. Kualitas semen beku sapi Brahman dengan dosis krioprotektan gliserol yang berbeda dalam bahan pengencer tris sitrat kuning telur. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*. 3 (2): 61 – 69.

- Sitepu, S. A. dan A. Putra. 2017. Pengaruh penambahan minyak atsiri kulit Jeruk Manis pada pengencer tris kuning telur terhadap kualitas semen *post-thawing* Sapi Simmental. *Jurnal Peternakan Indonesia*. 19 (3): 149 – 155.
- Srianto, P. 2016. Uji mutu semen beku kambing Peranakan Ettawa (PE) dalam tiga macam pengencer yang berbeda dengan pemeriksaan *water incubator*. *Jurnal Veterinaria Medika*. 6 (2): 157 – 160.
- Standar Nasional Indonesia. 2014. Semen Beku Bagian 3 Kambing dan Domba SNI 4869.3: 2014. Badan Standarisasi Nasional, Jakarta.
- Suharlina. 2012. Manfaat *Indigofera sp.* dalam bidang pertanian dan industri. *Jurnal Pastura*. 2 (1): 30 – 33.
- Susilawati, T. 2011. Spermatologi. Universitas Brawijaya Press, Malang.
- Susilowati, S. 2010. Efek waktu sentrifugasi terhadap motilitas, daya hidup dan tudung akrosom spermatozoa kambing. *Jurnal Veterinaria Medika*. 3 (1): 61 – 64.
- Syauqy, A. 2014. Evaluasi kromatin spermatozoa sebagai indikator kualitas spermatozoa. *Majalah Kedokteran Sriwijaya*. 46 (3): 236 – 242.
- Tambing, S. N., M. R. Toelihere, T. L. Yusuf dan I. K. Sutama. 2000. Pengaruh gliserol dalam pengencer tris terhadap kualitas semen beku kambing Peranakan Etawah. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*. 5 (2): 1 – 8.
- Tethool, A. N., A. R. Ollong dan J. F. Koibur. 2017. Kualitas mikroskopik spermatozoa ayam kampung (*Gallus gallus*) setelah pemberian sari Buah Merah (*Pandanus conoideus lam*). *Prosiding Seminar Nasional Peternakan*. Makassar, 18 September 2017. Universitas Hasanuddin, Makassar. Hal. 77 – 44.

- Tjelele, T. J. 2006. Dry matter production, intake and nutritive value of certain *Indigofera* species. Pretoria (ZA). University of Pretoria.
- Toelihere, M. R. 1981. Inseminasi Buatan pada Ternak. Angkasa, Bandung.
- Wahyuningsih, A., D. Mulyadi dan Sugiyatno. 2013. Pengaruh umur pejantan dan frekuensi penampungan terhadap volume dan motilitas semen segar Sapi Simental di Balai Inseminasi Buatan Lembang. *Jurnal Ilmu Peternakan*. 1 (3): 947 – 953.
- Yumte, K., B. Wantouw dan E. D. Queljoe. 2013. Perbedaan motilitas spermatozoa sapi jantan (Fresian Holstein) setelah pemberian cairan kristaloid-ringer laktat. *Jurnal E-Biomedik*. 1 (1): 184 – 189.
- Zulkarnain, Sutiyono dan E. T. Setiatin. 2015. Pemanfaatan ekstrak hipotalamus kambing sebagai upaya optimalisasi kesuburan kambing Kejobong betina. *Jurnal Veteriner* September 16 (3): 343 – 350.

INDEKS

Abnormalitas	9, 10, 13, 14, 28, 29, 33, 34, 35, 40, 41, 46, 47, 48, 49	Feromon	4
Abnormalitas Mayor	10	Fertilisasi	11, 12, 40
Abnormalitas Minor	10	Fertilitas	10, 15, 31, 45
Abnormalitas Primer	10, 13, 29, 34, 35, 40, 49	Fertilitas	11
Abnormalitas Sekunder	10, 13, 29, 35	Filtrasi	18, 19, 22, 24, 25, 27, 29
Abnormalitas Sekunder	35	Flavanoid	2, 33, 34, 38
Agronomis	2	Folikel De Graaf	5
Akrosin	13	Fosfolipase	14
Alkaloid	2, 37, 39	Gerak Massa	9
<i>Ampulla</i>	4, 6	GPR-PRO19,	21, 22, 24, 26, 27, 28, 29, 30, 43
Antibiotik	2, 16, 20, 22, 39	<i>Heat Shock</i>	8
Antioksidan	2, 32, 33, 34, 37, 38, 39, 42	Hialuronidase	12
Betina Akseptor	7, 20	<i>Hipoosmotic Swelling</i>	12
<i>Buffer</i>	14, 15, 20	<i>Hypertonic</i>	15, 31
Bulbouretralis	14	Indospicine	2, 39
<i>Carbohydrate Glycosides</i>	2, 37, 39	Inseminasi	7, 23, 45, 46, 52
<i>Cold Shock</i>	8, 9, 14, 15, 17	Kelenjar <i>Ascensoris</i>	3
<i>Corona Penetrating Enzyme</i>	13	Kriopreservasi	14
Dehidrasi	35	Lesitin	14, 15
Desinfektan	8	Leusin	30
Difusi	28, 30	Libidonya	8
Ejakulasi	10, 29, 31, 35	Lipoprotein	14, 15, 36
Ejakulasi	8	<i>Luteinizeing Hormone</i>	3
<i>Electro Ejaculator</i>	8	<i>Massage</i>	8
Eosin Negrosin	10	Maturasi	4
<i>Estrogen</i>	5	Membran Plasma Utuh	12, 38, 39
<i>False Mounting</i>	8	Mikroba	8, 12
		Monogastrik	2
		Motilitas	9, 11, 14, 15, 20, 23, 26, 30, 31, 33, 37, 41,

43, 45, 46, 47, 48, 49, 51, 52	
Nutrien	30
Pantom	8
Peroksidasi Lipid	31, 32, 34, 35, 38, 39
<i>Post Thawing Motility</i>	9
Prefreezing	17
<i>Prenulum Prepution</i>	8
Progresif	9, 11, 15, 36
<i>Protoplasmic Droplet</i>	4
Reaksi Peroksidasi	33, 34
Saponin	2, 32, 37, 39
Sel Gamet	3
Sel Interstitial	3
Sel Leydig	3
Sel Sertoli	3
Sel Tubuli Seminiferi	3
Semen Beku	7, 8, 9, 14, 16, 18, 45, 50, 51
Spermin	4
Steroid	2, 37, 39
<i>Stock Solution</i>	14, 21, 22, 32, 33, 34, 41, 43, 47
Suspensi	18, 24, 25, 26, 28, 29
Tanin	2
Tekanan Osmotik	11, 15, 20, 31, 33, 34, 37
Terpeniod	2, 37, 39
<i>Testosterone</i>	3
<i>Theca Interna</i>	5
Tudung Akrosom	12, 40
Turbiditas	19, 24, 25, 26
Vagina Buatan	8
Vaselin	8
VFA	2
Viabilitas	11, 27, 36, 48
<i>Zona Pellusida</i>	13

GLOSSARIUM

- Agronomis : Ilmu teknologi untuk memanfaatkan tumbuhan untuk bahan pangan, bahan bakar dan aplikasi lingkungan.
- Akrosin : Enzim protease yang dapat menghancurkan glikoprotein yang terdapat di zona pellusida.
- Alkaloid : Sebuah golongan senyawa basa nitrogen heterosiklik yang terdapat pada tumbuhan.
- Betina akseptor : Betina yang digunakan sebagai penerima semen dalam proses inseminasi buatan.
- Bulbouretralis : Kelenjar Cowper; berfungsi untuk menghasilkan cairan saat ejakulasi.
- Carbohydrate glycosides* : Zat kompleks mengandung gula yang ada pada tumbuhan.
- Cold shock* : Cekaman suhu dingin secara tiba-tiba saat proses pembekuan semen yang dapat merusak struktur membrane sel sperma.
- Dehidrasi : Kondisi sel yang terlalu banyak kehilangan cairan.
- Desinfektan : Bahan yang digunakan sebagai pencegah infeksi atau pencemaran mikroba.
- Difusi : Peristiwa berpindahnya suatu zat dalam pelarut dari bahan yang berkonsentrasi tinggi ke bahan yang berkonsentrasi rendah.
- Dummy* : Boneka peraga.
- Ejakulasi : Peristiwa pengeluaran sperma dari organ reproduksi jantan.
- Electro ejaculator* : Alat yang digunakan sebagai pemacu ejakulasi dengan menggunakan aliran

- listrik.
- Estrogen* : Sekelompok senyawa steroid yang berfungsi terutama sebagai hormon reproduksi betina.
- Eosin-nigrosin : Zat berwarna merah yang dihasilkan dari aksi Brom pada Fluorescein, biasanya digunakan untuk melakukan uji mikroskopis sel.
- False mounting* : Mendekatkan dan membiarkan pejantan menaiki teaser tanpa melakukan ejakulasi selama waktu tertentu.
- Feromon : Sejenis zat kimia yang berfungsi untuk merangsang dan memiliki daya pikat seksual pada jantan maupun betina.
- Fertilisasi : Proses pembuahan; bertemunya sel sperma dengan sel ovum.
- Filtrasi : Metode pemisahan fisik yang dipakai untuk memisahkan antara larutan dengan padatan yang memiliki ukuran tertentu.
- Flavonoid : Senyawa bioaktif serupa dengan antioksidan yang banyak ditemukan di tumbuhan.
- Folikel De Graaf : Folikel yang telah matang dan siap mengalami ovulasi.
- Fosfolipase : Enzim yang menghidrolisis fosfolipid menjadi asam lemak dan zat lipofilik lainnya.
- Gerak massa : Pergerakan segerombolan spermatozoa pada semen segar yang belum diencerkan dan membentuk seperti gelombang.
- Heat shock* : Cekaman suhu dingin secara tiba-tiba saat proses pengenceran atau *thawing* semen beku yang dapat merusak struktur membrane sel sperma.
- Hialuronidase : Keluarga enzim yang mengkatalisasi degradasi asam hialuronat.

- Hypoosmotic swelling* : Suatu metode pengujian membrane plasma utuh.
- Hypertonic : Larutan yang mempunyai konsentrasi terlarut tinggi.
- Indospicine : Asam amino non-protein yang hampir sama dengan arginin yang banyak diketemukan pada bagian biji dan daun dari tanaman *I. spicata*, *I. hirsute*, *I. linifolia* dan *I. endecaphylla*, sedangkan pada species *Indigofera* yang lain dilaporkan hanya sedikit dan tidak berpotensi menyebabkan keracunan dan penurunan palatabilitas.
- Kelenjar *Ascessoris* : Pelengkap organ reproduksi jantan yang sekresinya berupa cairan dan merupakan bagian terbesar dari semen yang mengandung banyak karbohidrat, protein, asam-asam amino, beberapa enzim, vitamin yang larut dalam air, beberapa mineral dan asam sitrat serta bahan-bahan organik lainnya, terdiri dari Vesikula Seminalis, Prostat dan Cowper.
- Kriopreservasi : Teknik penyimpanan sel hewan, tumbuhan ataupun materi genetika lain (termasuk semen) dalam keadaan beku.
- Lesitin : Turunan dari senyawa lipida, termasuk dalam lemak majemuk, disebut juga dengan fosfatidilkolin, karena mengandung gugus fosfat dan kolin; dikenal juga dengan emulsifier, karena berfungsi untuk mempertahankan emulsi ikatan air dan minyak atau lemak, dan banyak dimanfaatkan sebagai emulgator pada industri makanan.
- Leusin : Asam amino rantai cabang yang tergolong sebagai asam amino esensial

	yang sangat penting untuk sintesis protein dan perbaikan otot.
Libido	: keinginan seksual yang timbul dari energi psikis dan emosional dan berkaitan dengan insting untuk bereproduksi.
Lipoprotein	: Struktur biokimia yang berisi protein dan lemak, yang terikat pada protein, yang memungkinkan lemak untuk bergerak melalui air pada bagian dalam dan di luar sel.
<i>Luteinizing Hormone</i>	: Hormon yang diproduksi oleh sel gonadotropik di kelenjar hipofisis anterior, berfungsi untuk memicu ovulasi dan perkembangan corpus luteum.
Maturasi	: Proses menjadi dewasa (matang)
Membran plasma utuh	: Tingkat keutuhan membrane plasma.
Mikroba	: Organisme hidup yang berukuran sangat kecil dan hanya bisa diamati dengan bantuan mikroskop.
Monogastrik	: Organisme dengan perut yang sederhana dan bilik tunggal pada sistem pencernaannya.
Nutrien	: Unsur atau senyawa kimia yang digunakan untuk metabolisme atau fisiologi organisme.
Peroksidasi lipid	: Degradasi oksidatif pada lipid; reaksi yang terjadi antara radikal bebas dengan asam lemak tak jenuh jamak yang mengandung sedikitnya tiga ikatan rangkap.
<i>Post thawing motility</i>	: Pergerakan spermatozoa dari semen beku setelah dilakukan pencairan.
<i>Prenulum preputium</i>	: Bagian ujung pembungkus penis pada ternak jantan

Saponin	: Senyawa berupa glikosida amfipatik yang berasal dari tumbuhan.
Sel Gamet	: Sel yang dihasilkan oleh organ reproduksi baik jantan maupun betina yang berfungsi untuk fertilisasi dan bersifat haploid
Sel <i>Interstitial</i>	: Sel-sel yang terdapat didalam testis yang berfungsi untuk menunjang proses spermatogenesis
Semen	: Kumpulan dari spermatozoa yang keluar bersama cairan yang dikeluarkan oleh kelenjar aksesoris pada organ reproduksi jantan.
Semen beku	: Semen yang telah mengalami proses pembekuan.
Spermin	: Bau khas yang terdapat pada sperma yang disekresi oleh kelenjar Prostat; poliamin yang terlibat dalam regulasi pertumbuhan sel, regenerasi jaringan, dan modulasi inflamasi.
Steroid	: Senyawa organik lemak sterol yang tidak terhidrolisis; didapatkan dari hasil reaksi penurunan dari terpena atau skualena.
Suspensi	: Campuran fluida yang mengandung partikel padat.
Tanin	: Senyawa polifenol yang berasal dari tumbuhan yang dapat bereaksi dengan menggumpalkan protein pada senyawa organik.
Terpenoid	: Hidrokarbon yang dapat dihasilkan oleh tumbuhan maupun serangga; biasanya terkandung pada getah dan vakuola sel.
<i>Testosterone</i>	: Hormon reproduksi pada jantan yang dihasilkan secara alami oleh testis.
<i>Theca Interna</i>	: Sel yang berada dalam folikel dan berperan dalam mensekresikan hormon

estrogen.
Vaselin : Pelumas yang berasal dari petroleum.
Zona pellusida : Lapisan yang terdapat dalam sel ovum yang berfungsi untuk menyeleksi sperma yang masuk.

TENTANG PENULIS



Penulis dilahirkan di Purwodadi pada tanggal 22 Februari 1955. Penulis mengenyam pendidikan Sekolah Dasar di SDN II Karangrayung tamat pada tahun 1968, Sekolah Menengah Pertama di SMPN II Semarang tamat pada tahun 1971 dan Sekolah Menengah Atas di SMAN III Semarang tamat pada tahun 1974 di Jurusan Ilmu Pengetahuan Alam (IPA). Penulis terdaftar sebagai mahasiswa S1 Peternakan, di Program Studi S1 Peternakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro. Penulis memperoleh gelar Sarjana Peternakan pada tahun 1981.

Tahun 1982 penulis terdaftar sebagai mahasiswa magister, di Sekolah Pascasarjana, Program Studi Biologi Reproduksi, Institut Pertanian Bogor. Penulis memperoleh gelar Magister Sains pada tahun 1985. Mulai Tahun 1992 penulis terdaftar sebagai mahasiswa doktor, di Program Studi Biologi Reproduksi, Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Penulis memperoleh gelar Doktor pada tahun 1998.

Beberapa publikasi karya ilmiah dari penulis pernah diterbitkan di jurnal internasional seperti *Journal of the Indonesian Tropical Agriculture* dengan judul “*Effect of two pre-freezing methods on quality of sexed semen in Ettawa Grade goat*” pada tahun 2018 dan “*Level of Sodium chloride (NaCl) and profile of cervical mucus of dairy cattle at various age synchronized by Prostaglandine*” pada tahun 2019; *International Journal of Veterinary Science* dengan judul “*Optimization of semen diluents using filtration technique enriched with Indigofera sp. leaf extract*” dan “*In vitro maturation of Ovine oocytes using Follicle Stimulating Hormone (FSH), Estradiol-17beta, and Co-Culture of Fallopian Tube Epithelial Cells (FTEC) in tissue culture*” pada tahun 2019.

Publikasi karya ilmiah dari penulis juga pernah diterbitkan di jurnal nasional terakreditasi seperti Jurnal

Pengembangan Penyuluhan Pertanian Bidang Ilmu-ilmu Peternakan dengan judul "Perkembangan Embrio Domba *In Vitro* dengan Penambahan Hormon dan Ko-kultur Sel-sel Epitel Tuba Falopii dalam TCM -199" pada tahun 2006; Jurnal Sains Peternakan Indonesia dengan judul "Pengaruh Panjang Elektroda terhadap Pemisahan dan Kualitas Sperma X dan Y pada Domba" pada tahun 2019.

Penulis juga aktif mengikuti seminar, diantaranya Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner pada tahun 2008 dengan judul "Pengaruh Jenis Pengencer Terhadap Kualitas Semen Beku Domba Dombos di Kabupaten Wonosobo"; Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner Inovasi Teknologi Mendukung Pengembangan Agribisnis Peternakan Ramah Lingkungan tahun 2008 dengan judul "Pengaruh Jenis Pengencer terhadap Kualitas Semen Beku Dombos Texel di Kabupaten Wonosobo"; National seminar on zoo technique for indogenous resources development pada tahun 2011 dengan judul "Penanganan dan Penyimpanan Ovarium dari Rumah Pematangan Hewan sebagai Sumber Oosit dalam Produksi Embrio *In Vitro*"; Seminar Nasional Kebangkitan Peternakan III: Hilirisasi Teknologi Peternakan pada Era Revolusi Industri 4.0 pada tahun 2018 dengan judul "Potensi Reproduksi Sapi Jawa"; Seminar Nasional Kebangkitan Peternakan III : "Hilirisasi Teknologi Peternakan pada Era Revolusi Industri 4.0 pada tahun 2018 dengan judul "Introduksi Pembuatan Semen Beku dan Pelaksanaan Inseminasi Buatan pada Sapi Jawa Brebes". Sampai saat ini, penulis masih aktif sebagai staf pengajar di Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, melakukan kegiatan penelitian serta menulis karya ilmiah di bidang reproduksi ternak.