



Penggunaan Berbagai Pengencer Terhadap Kualitas Semen Beku Kambing Saanen

Utilization of Various Diluents on the Quality of Frozen Semen from Saanen Goats

Lailatun Nisfimawardah^{1*}, Firdaus Husein¹, Erlina Astuti¹, Monasdir, Riskayanti¹, Antonius Adhityawan Nugroho¹

¹ Study Program of Animal Production Technology, Department of Agriculture, Politeknik Lamandau Jln. Trans Kalimantan, Kujan, Kecamatan Bulik 74612 Kabupaten Lamandau, Kalimantan Tengah, Indonesia

* Corresponding Author. E-mail address: lailatumnisfi10@gmail.com

ARTICLE HISTORY:

Submitted: 5 July 2024

Revised: 27 August 2024

Accepted: 29 August 2024

Published: 1 March 2025

KATA KUNCI:

AndroMed®
Kambing Saanen
Kualitas Semen
OvixCell®
Semen Beku

KEYWORDS:

AndroMed®
Frozen Semen
OvixCell®
Saanen Goat
Semen Quality

ABSTRAK

Kambing Saanen memiliki volume semen per ejakulasi rendah tetapi konsentrasinya tinggi. Penelitian ini dilaksanakan di Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) Singosari, Kabupaten Malang, Jawa Timur. Tujuan dilakukan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh penggunaan berbagai pengencer terhadap kualitas semen Kambing Saanen. Sampel yang digunakan terdiri dari 3 ekor Kambing Saanen Jantan dengan bobot badan 32,5 kg, 43 kg dan 44,5 kg dengan umur 1,5-2 tahun. Penggunaan berbagai pengencer berbeda terdiri dari pengencer tris aminomethan kuning telur (Perlakuan 0), AndroMed® (Perlakuan I) dan OvixCell® (Perlakuan II). Metode penelitian menggunakan metode eksperimental laboratorium menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK). Analisis data menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) apabila terdapat perbedaan yang nyata atau sangat nyata maka dianalisis lanjut menggunakan *Duncan's Multiple Range Test*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan berbagai pengencer yang berbeda berpengaruh tidak nyata ($P>0,05$) terhadap motilitas, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa. Variabel penelitian meliputi volume, warna, pH, bau, konsistensi, konsentrasi spermatozoa, motilitas, viabilitas dan abnormalitas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan berbagai pengencer layak digunakan sebagai pengencer dan mampu mempertahankan motilitas secara normal $>40\%$, daya tahan hidup dan kelainan spermatozoa ($<5\%$) terhadap pembekuan semen

ABSTRACT

Saanen goats have low semen volume per ejaculation but high concentration. This study was conducted at the Singosari Center Artificial Insemination (SCAI), Malang Regency, East Java. The purpose of this study was to determine the effect of using various diluents on the quality of Saanen goat semen. The samples used consisted of 3 male Saanen goats with body weights of 32.5 kg, 43 kg and 44.5 kg with ages of 1.5-2 years. The use of various different diluents consisted of tris aminomethane egg yolk diluent (Treatment 0), AndroMed® (Treatment I) and OvixCell® (Treatment II). The research method used a laboratory experimental method using a Randomized Block Design (RAK). Data analysis using *Analysis of Variance* (ANOVA) if there is a significant or very significant

© 2025 The Author(s). Published by
Department of Animal Husbandry, Faculty
of Agriculture, University of Lampung in
collaboration with Indonesian Society of
Animal Science (ISAS).
This is an open access article under the CC
BY 4.0 license:
<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

difference then further analysis using Duncan's Multiple Range Test. The results showed that the use of various different diluents had no significant effect ($P>0.05$) on motility, viability and spermatozoa abnormalities. The research variables included volume, color, pH, odor, consistency, spermatozoa concentration, motility, viability and abnormality. The results showed that the use of various diluents was feasible to be used as diluents and was able to maintain normal motility $>40\%$, spermatozoa survival and abnormality $<5\%$ against semen freezing.

1. Pendahuluan

Pembekuan semen kambing dilakukan untuk mempertahankan kelangsungan hidup bagi spermatozoa melalui penyimpanan, pengenceran maupun pendinginan. Kualitas semen beku pada semen kambing di Indonesia tergolong rendah dengan kisaran kurang dari 40% sebelum di inseminasikan (Inounu, 2014). Hal tersebut disebabkan oleh beberapa faktor selama proses pembekuan yang berlangsung meliputi persiapan peneliti, penyimpanan semen, evaluasi semen segar, pengenceran semen, pengemasan, pembekuan dan pemeriksaan setelah pembekuan (Moore and Hasler, 2017). Aspek yang sering ditemukan dalam keberhasilan mempertahankan kualitas spermatozoa melalui jenis-jenis pengencer yang digunakan (Nisfimawardah et al., 2023). Oleh karena itu, formulasi dalam pengencer dan penggunaannya perlu diperhatikan agar mampu meningkatkan kualitas semen setelah pembekuan.

Syarat pengencer yang digunakan mampu melindungi membran sel spermatozoa dan mencegah terjadinya *cold shock* saat pendinginan. Wajo et al. (2023) menyatakan bahwa syarat pengencer yang baik yaitu memiliki kandungan dan fisik menyerupai semen. Berbagai pengencer yang digunakan dalam pembekuan semen meliputi tris aminomethan kuning telur, AndroMed® dan OviXcell®. Pengencer tris aminomethan kuning telur mengandung kuning telur sebagai sumber energi (Wiratri et al., 2014). Sedangkan AndroMed® merupakan pengencer paten tanpa penambahan kuning telur yang memiliki fertilitas tinggi terhadap pembekuan semen (Lestari et al., 2014).

Berdasarkan penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pengencer paten memiliki kualitas semen yang baik dalam melindungi spermatozoa terhadap motilitas, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa. Akan tetapi penelitian pengencer paten pada semen beku kambing jarang dilakukan dengan pengencer AndroMed® sedangkan pengencer OviXcell® belum pernah dilakukan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk

mengetahui hasil terbaik pada berbagai pengencer terhadap kualitas semen beku kambing Saanen.

2. Materi dan Metode

2.1. Penampungan semen

Penelitian ini menggunakan 3 kambing Saanen dengan umur 1,5-2 tahun di Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) Singosari. Waktu penelitian dilakukan pada 1 Mei hingga 30 Mei 2024. Penelitian menggunakan 3 perlakuan dan 7 kali ulangan. Kambing betina digunakan sebagai pemancing untuk meningkatkan libido agar ereksi terjadi secara sempurna. Penampungan semen menggunakan vagina buatan (IMV, *France*) dengan suhu 50-60°C dengan air sebanyak 450-500 ml.

2.2. Persiapan pengencer

Pengencer semen yang digunakan terdiri dari tris aminomethan kuning telur, AndroMed® dan OviXcell®. Tris aminomethan kuning telur menggunakan 1.363 g tris aminomethane (Merck, 77-48-1, USA), 0.762 g asam sitrat (Merck, 5949-29-1, USA), 15 g laktosa (Merck, 10039-26-6, USA), 0.5 g fruktosa (Merck, 57-48-7, USA), 20 g kuning telur, 2.7 g rafinosa (Wako Specil Grade, CAJ3445, Japan), 0.1 g streptomycin (Meiji, DL 2012033, Indonesia), 80 ml aquabidest (Generik, GKL1310400943A2, Indonesia), 0.1 g penicillin (Meiji, DKL7215302544A1, Indonesia), and 13% glycerol (J.T. Baker, 0000245228, United Kingdom). Pengencer AndroMed® (Minitube, 13503, Germany) mengandung komposisi fructose, glycerol, citrid acid, buffer, aquabidest, spectynomicine, phospholipids, 15 mg lyncomycine, 5 mg tylocin and 25 g gentamycin (Susilawati, 2011). Pengencer OviXcell® (IMV, *France*) mengandung komposisi garam, gula, *electrolytes*, *ultra pure water*, *glycerol*, antibiotik dan protein non hewani, dan beberapa bahan yang tidak disebutkan oleh produsen (Kakati, *et.al* 2019).

Pengencer tris aminomethan kuning telur memiliki tahapan yaitu V1, V2 dan V3. V1 tanpa penambahan glycerol dengan rasio perbandingan pengencer dan semen 1:1. V2 tanpa glycerol, ditambahkan pengencer setelah semen di ekuilibراسi dengan suhu 4-5°C dan V3 mengandung glycerol 13%. Pengencer AndroMed® diencerkan dengan perbandingan 1:4 (pengencer:aquabidest). Pengencer OviXcell® langsung digunakan pada semen tanpa dilakukan pengenceran dengan perbandingan 1:1 (pengencer:semen)

2.3. Parameter evaluasi semen

Parameter keberhasilan semen beku dilakukan selama lebih dari 24 jam yang disimpan pada kontainer nitrogen cair (N₂) kemudian di thawing pada *water bath* dengan suhu 37°C.

2.3.1 Motilitas

Motilitas spermatozoa merupakan persentase pergerakan spermatozoa secara progresif dan aktif diamati pada mikroskop (Olympus CX-23, Japan) dengan perbesaran 400x. Beberapa faktor berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa karena motilitas akan menurun karena metabolisme energi pada akhirnya memengaruhi efek inseminasi buatan (Yuan, et.al 2023).

2.3.2 Viabilitas

Viabilitas merupakan jumlah keseluruhan spermatozoa hidup dan mati yang diamati menggunakan preparate ulas menggunakan pewarna eosin negrosin menggunakan mikroskop menggunakan perbesaran 400x. Pengamatan viabilitas spermatozoa dilakukan pada suhu ruang 37°C (Vargas, et.al 2023).

2.3.3 Abnormalitas

Abnormalitas merupakan pengamatan spermatozoa yang mengalami kelainan bentuk seperti kepala dan ekor terpisah, ukuran kepala terlalu kecil dan ukuran kepala terlalu besar. Proses pembekuan semen yang lama dapat menyebabkan penyusutan sel yang mengakibatkan sebagian besar organel mengalami kelainan morfologi (Perumal et al., 2023).

2.3.4 Analisis Data

Analisis data menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) apabila terdapat perbedaan yang nyata atau sangat nyata maka dianalisis lanjut menggunakan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT).

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Kualitas semen segar Kambing Saanen

Berdasarkan hasil pengamatan semen segar secara makroskopis dan mikroskopis maka rata-rata kualitas semen segar Kambing Saanen disajikan pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Rataan kualitas semen segar Kambing Saanen.

Parameter	Hasil Pengamatan
Makroskopis	
Volume (mL)	0,8±0,07
Warna	Putih Susu
pH	6,3
Bau	Khas
Konsistensi	Pekat
Mikroskopis	
Konsentrasi (Juta/mL)	3537,6±352,70
Motilitas spermatozoa (%)	74,3±0,71
Gerakan Massa spermatozoa	+++
Viabilitas spermatozoa (%)	81,9±2,10
Abnormalitas spermatozoa (%)	3,7±1,00

Berdasarkan hasil evaluasi pengamatan semen segar didapatkan hasil yang disajikan pada **Tabel 1**. Semen segar merupakan indikator dalam menentukan kualitas semen sebelum dilakukan pembekuan. Semen segar diperoleh pertama kali setelah penampungan dan di evaluasi sebelum dilakukan pengenceran. Volume semen segar yang ditampung sebanyak 7 kali memiliki rata-rata 0,8 ± 0,07 ml. Perbedaan volume kambing pada saat ejakulasi disebabkan oleh umur, pakan, frekuensi penampungan dan beberapa faktor lainnya. Semen segar sebelum dilakukan pada tahap pengenceran dilakukan evaluasi secara mikroskopis (Lupitasari et al., 2020). Kondisi semen segar dapat diidentifikasi berdasarkan warna yang normal dan tidak normal. Adapun warna yang tidak normal biasanya berwarna merah muda mengindikasikan semen telah terkontaminasi dengan darah atau terjadi pendarahan pada saat penampungan. Kemudian jika warna semen abu-abu atau kecoklatan menunjukkan adanya infeksi pada saluran reproduksi jantan (Susilawati, 2011).

Selain pada warna, pH semen rata-rata sebesar 6,3. Rentang nilai pH semen dapat diketahui menggunakan pH meter dengan penilaian sesuai dengan warna dan angka yang disajikan pada **Tabel 1**. Semakin pekat warna menunjukkan semen dalam kondisi basa atau diatas 7 dan semakin memudar warna menunjukkan semen asam atau dibawah 6. Hal ini sesuai dengan Nubatonis et al. (2022) bahwa pengukuran pH semen dilakukan

dengan pH meter dengan mencelupkan *prub* kedalam semen kemudian dibaca hasilnya sesuai dengan indikator warna yang tertera. Adapun pH semen yang normal pada kisaran 6,4 (Barek et al., 2020). Penelitian Istanty et al. (2017) lebih tinggi yaitu pH yang diperoleh sebesar 7.

Hasil yang diperoleh bahwa bau memiliki aroma khas semen. Bau semen normal memiliki kesamaan dengan aroma pakan pada kambing. Bau semen segar normal saat diberikan pakan leguminosa memiliki bau yang khas (Putri et al., 2019). Semen yang menghasilkan bau amis seperti darah mengindikasikan semen tidak normal. Semen yang tidak normal rata-rata memiliki bau busuk maupun amis seperti darah (Kusumawati et al., 2016).

Pada saat semen diamati konsistensi atau tingkat kekentalannya dapat diketahui dengan mengalirkan pada tabung manual. Rata-rata yang dihasilkan sesuai yang disajikan pada **Tabel 1**. Bahwa semen segar memiliki konsistensi yaitu pekat. Kekentalan pada semen segar dapat dihubungkan dengan warna, apabila warna semakin pudar maka semen yang dihasilkan encer dan konsentrasi spermatozoa rendah sedangkan apabila warna semakin pekat maka semen yang dihasilkan semakin kental dan konsentrasi spermatozoa tinggi (Mokoagow et al., 2021).

Gerakan massa spermatozoa merupakan indikator penting dari kualitas semen dan kesuburan. Gerakan massa merujuk pada pola gerakan bersama dari sekelompok spermatozoa. Hal ini biasanya terlihat sebagai gerakan gelombang atau kelompok yang bergerak secara bersamaan. Hasil yang didapatkan sesuai yang disajikan pada **Tabel 1** bahwa gerakan massa sangat baik (+++) sehingga gerak massa terbaca dengan baik dan berkelompok.

Motilitas pada saat semen segar yaitu minimal 70% dapat dikategorikan layak untuk pengenceran dan lanjut pada tahap pendinginan maupun pembekuan (Ratnawati et al., 2017). Penetapan semen segar minimum 70% dilakukan untuk menghindari penurunan motilitas individu secara cepat dalam proses pembekuan semen dengan tahapan yang cukup lama. Semen segar apabila diproses lanjut akan mengalami penurunan motilitas sehingga penetapan standar cukup tinggi (Fazrien et al., 2020). Kemudian rata-rata viabilitas spermatozoa semen segar sebesar $81,9 \pm 2,10\%$. Pengamatan viabilitas dengan menggunakan preparat dengan penambahan pewarna eosin negrosin. Pewarnaan eosin negrosin bertujuan untuk mengetahui spermatozoa yang menyerap warna dan tidak

menyerap warna. Kemudian dalam preparat yang sama dapat pula diamati abnormalitas spermatozoa merupakan adanya ketidaknormalan morfologi spermatozoa seperti adanya kepala spermatozoa terputus, ekor terpisah dan ukuran spermatozoa yang sangat kecil. Abnormalitas dalam penelitian ini sebesar $3,7 \pm 1,00\%$ dan masih dalam kategori normal karena kurang dari 10%

3.2. Motilitas individu

Motilitas individu merupakan pergerakan pada spermatozoa yang dinilai dalam persentase. Motilitas individu spermatozoa dapat diamati secara mikroskopis menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x. Penilaian motilitas dilakukan dengan lima lapang pandang. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Sumardani et al. (2019) bahwa penilaian motilitas ditentukan oleh hasil rata-rata dari lima hingga sepuluh lapang pandang untuk mengurangi bias dan merata di setiap sisi.

Kondisi semen segar dapat dilakukan identifikasi berdasarkan warna yang normal. Adapun kategori warna yang normal umumnya berwarna putih susu. Hal ini sesuai dengan (Adyatma et al., 2013) bahwa warna putih susu dapat dikategorikan semen dalam keadaan normal. Kemudian kondisi pH semen sebesar 6,3 mengindikasikan pH semen normal. Hal ini sesuai dengan penelitian Iskandari et al. (2020) bahwa uji pH semen pada kambing Sapera sebesar 6,5 dapat dikategorikan normal. Rataan motilitas semen beku Kambing Saanen pada berbagai pengencer disajikan pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Rataan motilitas semen beku Kambing Saanen pada berbagai pengencer.

Parameter	Motilitas (%)	
	<i>Before Freezing</i>	<i>Post Thawing</i>
Perlakuan 0 (Tris Aminomethan Kuning Telur)	55,00 $\pm$ 0,00	40,00 $\pm$ 0,00
Perlakuan I (AndroMed®)	52,86 $\pm$ 3,06	41,43 $\pm$ 1,43
Perlakuan II (OvixCell®)	59,29 $\pm$ 0,71	44,29 $\pm$ 2,77

Penilaian motilitas individu kurang dari 40% setelah pembekuan dikategorikan kurang baik karena berhubungan dengan tingkat infertilitas. Spermatozoa yang progresif dapat dinilai dengan pergerakan maju kedepan. Wajo (2006) menyatakan bahwa pergerakan spermatozoa dapat memengaruhi keberhasilan fertilisasi. Berdasarkan hasil penelitian bahwa motilitas saat *before freezing* persentase tertinggi oleh perlakuan II dan saat *post thawing* tertinggi oleh pengencer Perlakuan II masing-masing sebesar 59,29 $\pm$ 0,71% dan 44,29 $\pm$ 2,77% mengalami penurunan. Hal ini disebabkan oleh proses

pendinginan mengakibatkan perubahan suhu dan osmolalitas ekstrim sehingga lipid membran plasma mengalami kerusakan sehingga nilai motilitas menurun. Hasil penelitian menggunakan berbagai pengencer yang dihasilkan antar perlakuan disebabkan oleh bahan yang terkandung dalam pengencer berbeda sehingga mempengaruhi motilitas spermatozoa setelah pembekuan. Motilitas rata-rata nilai tertinggi menggunakan pengencer OviXcell® dikarenakan mengandung bahan pengencer nabati yaitu lesitin kedelai, elektrolit dan *ultra pure water*. Nadri et.al (2019) menyatakan bahwa pengencer dengan mengandung lesitin kedelai mampu mencegah kerusakan dari *cold shock*. Lesitin kedelai merupakan bahan protein non hewani atau nabati yang memiliki kandungan asam lemak tak jenuh sehingga memiliki kompatibilitas yang tinggi. Rata-rata nilai yang dihasilkan pada *post thawing* menggunakan pengencer OviXcell® (Perlakuan II) lebih tinggi dibandingkan dengan pengencer tris aminomethan kuning telur (P1) dan pengencer AndroMed® (Perlakuan I).

Berdasarkan analisa statistik, penggunaan berbagai pengencer yang berbeda menunjukkan berpengaruh tidak nyata ($P>0,05$) terhadap motilitas individu spermatozoa. Hal ini disebabkan karena didalam komposisi tris aminomethan kuning telur (Perlakuan 0), AndroMed® (Perlakuan I) dan OviXcell® (Perlakuan II) memiliki komposisi berbeda tetapi kandungannya mampu melindungi spermatozoa dan memberikan nutrisi pada spermatozoa. Kandungan masing-masing pengencer memberikan nutrisi sebagai pelindung saat ekuilibrase dan pembekuan. Motilitas individu spermatozoa dapat bertahan menggunakan pengencer tris aminomethan kuning telur karena memiliki bahan penyangga dan nutrisi dengan komposisi besar meliputi tris aminomethan, asam sitrat, raffinosa dan kuning telur (Iskandari et al., 2014). Rizal et al. (2006) dan Iskandari et al. (2020) menyatakan bahwa raffinosa merupakan trisakarida yaitu gabungan antara galaktosa-glukosa-fruktosa sebagai penyedia sumber nutrisi, sedangkan pada pengencer paten AndroMed® dan OviXcell® mengandung bahan lesitin kedelai serta beberapa bahan tambahan lain yang tidak ditampilkan oleh produsen (Kakati et al., 2019). Penggunaan berbagai pengencer saat *post thawing* seringkali nilai motilitas menurun karena terbentuknya asam laktat yang mengakibatkan pergerakan progresif spermatozoa lebih rendah. Suprayogi et al. (2022) menyatakan bahwa asam laktat disebabkan oleh nilai pH yang rendah menyebabkan asam laktat terbentuk pada saat metabolisme spermatozoa berakhir. Hal tersebut menyebabkan pengencer memiliki sifat toksik bagi

spermatozoa. Hasil penelitian Masturi et al. (2021) pada pengencer paten AndroMed® setelah pembekuan menghasilkan persentase sebesar 73,9% lebih tinggi dibandingkan penelitian ini sebesar $41,43 \pm 1,43$ %. Hal ini disebabkan oleh adanya metode sentrifugasi pengencer 3000 rpm selama 20 menit pada penelitian tersebut akan tetapi pada penelitian ini tanpa menggunakan metode sentrifugasi Hasil penelitian setelah pembekuan pada perlakuan 0 sebesar $40,00 \pm 0,00$ %, Perlakuan I sebesar $41,43 \pm 1,43$ % dan Perlakuan II sebesar $44,29 \pm 2,77$ %. Saat post thawing seringkali nilai motilitas menurun karena terbentuknya asam laktat yang mengakibatkan pergerakan progresif spermatozoa lebih rendah. Suprayogi et al. (2022) menyatakan bahwa asam laktat disebabkan oleh nilai pH yang rendah menyebabkan asam laktat terbentuk pada saat metabolisme spermatozoa berakhir. Hal tersebut menyebabkan pengencer memiliki sifat toksik bagi spermatozoa. Hasil penelitian Masturi et al. (2021) pada pengencer paten AndroMed® setelah pembekuan menghasilkan persentase sebesar 73,9% lebih tinggi dibandingkan penelitian ini sebesar $41,43 \pm 1,43$ %. Hal ini disebabkan oleh adanya metode sentrifugasi pengencer 3000 rpm selama 20 menit pada penelitian tersebut akan tetapi pada penelitian ini tanpa menggunakan metode sentrifugasi, sedangkan pada pengencer paten OvixCell® menghasilkan persentase tertinggi sebesar $44,29 \pm 2,77$ % dibandingkan pengencer lainnya. Hal ini disebabkan oleh proses pendinginan mengakibatkan perubahan suhu dan osmolalitas ekstrim sehingga lipid membran plasma mengalami kerusakan sehingga nilai motilitas menurun.

3.3. Viabilitas spermatozoa

Viabilitas merupakan daya tahan hidup spermatozoa yang dapat diamati secara mikroskopis berdasarkan perbedaan warna. Pengamatan dilakukan dengan membuat preparat ulasan dengan pewarnaan menggunakan eosin-nigrosin dengan kemiringan ulasan 45° dengan pembesaran 400 kali. Pembuatan preparat ulas dengan menggunakan perbandingan semen menggunakan tetesan yang sama dengan kriteria kepala spermatozoa menyerap warna dan tidak menyerap warna (Wurlina et al., 2020). Hasil pengamatan viabilitas spermatozoa pada semen beku Kambing Saanen dengan pengencer yang berbeda disajikan pada **Gambar 1** dan **Tabel 3**.



Gambar 1. Pengamatan viabilitas spermatozoa pada semen beku Kambing Saanen dengan pengencer yang berbeda. Keterangan: (a) tidak menyerap warna (hidup), (b) menyerap warna (mati).

Tabel 3. Rataan viabilitas spermatozoa Kambing Saanen pada berbagai pengencer

Parameter	Viabilitas (%)	
	<i>Before Freezing</i>	<i>Post Thawing</i>
Perlakuan 0 (Tris Aminomethan Kuning Telur)	69,19±5,41	63,03±5,11
Perlakuan I (AndroMed®)	77,92±5,57	63,40±2,02
Perlakuan II (OvixCell®)	80,97±4,71	73,58±4,21

Berdasarkan analisa statistik, menunjukkan bahwa penggunaan berbagai pengencer berpengaruh tidak nyata terhadap viabilitas spermatozoa ($P>0,05$). Rata-rata viabilitas berbagai pengencer yang dihasilkan antara 60-70% artinya daya tahan hidup baik. Penggunaan berbagai pengencer sama-sama memiliki kualitas pelindung bagi spermatozoa dengan baik. Hal tersebut disebabkan oleh adanya perbedaan komposisi pengencer akan tetapi fungsinya sama dan mampu melindungi spermatozoa. Pengencer tris aminomethan kuning telur (Perlakuan 0) memiliki kandungan fruktosa dan laktosa. Fungsi dari fruktosa seringkali ditambahkan sebagai sumber energi dan mampu mempertahankan daya hidup spermatozoa (Berghe *et.al.*, 2018). Kemudian pada pengencer paten AndroMed® (Perlakuan I) dan OvixCell® (Perlakuan II) mengandung lesitin kedelai yang mengandung asam linoleat, inositol, kolin, asam fosfat dan vitamin B. Sun, *et.al* (2020) menyatakan bahan pengencer yang mengandung lesitin kedelai dapat digunakan sebagai pengencer alternatif pengganti kuning telur karena dapat mempertahankan nilai viabilitas. Hasil viabilitas tertinggi setelah pembekuan pada Perlakuan II, Perlakuan I dan Perlakuan 0 masing-masing berturut-turut sebesar 73,58±4,21%, 63,40±2,02% dan 63,03±5,11%. Menurunnya nilai viabilitas dari tahap *before freezing* ke *post thawing* disebabkan oleh adanya proses pembekuan yang

berpengaruh terhadap kemampuan membran untuk merespon tekanan osmotik. Khalil *et.al* (2018) menyatakan bahwa kerusakan membran plasma spermatozoa sebesar 15-20% menyebabkan adanya perubahan ion kalium, kalsium dan natrium. Apabila ion kalium, kalsium dan natrium menurun maka viabilitas spermatozoa akan berpengaruh sebab fungsi dari natrium dan kalium menjaga integritas membran plasma sedangkan fungsi pada kalium menginduksi motilitas dan viabilitas spermatozoa.

3.4. Abnormalitas spermatozoa

Abnormalitas spermatozoa merupakan kelainan pada bentuk atau struktur spermatozoa. Pengamatan abnormalitas dilakukan dengan menggunakan pewarna eosin-nigrosin pada preparat ulasan. Faktor yang menyebabkan kelainan morfologi pada spermatozoa antara lain lingkungan, genetik maupun teknis setelah dilakukan penampungan. Rataan abnormalitas spermatozoa Kambing Saanen pada berbagai pengencer disajikan pada **Tabel 4**.

Tabel 4. Rataan abnormalitas spermatozoa Kambing Saanen pada berbagai pengencer.

Parameter	Abnormalitas (%)	
	<i>Before Freezing</i>	<i>Post Thawing</i>
Perlakuan 0 (Tris Aminomethan Kuning Telur)	2,41±0,49	4,16±1,70
Perlakuan I (AndroMed®)	2,74±1,04	2,41±0,38
Perlakuan II (OvixCell®)	1,34±0,21	2,98±0,36

Berdasarkan analisa statistik menunjukkan bahwa penggunaan berbagai pengencer yang berbeda tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap abnormalitas spermatozoa. Pada Perlakuan 0 menggunakan pengencer tris aminomethan kuning telur menghasilkan persentase 2,41% saat before freezing mengalami peningkatan saat post thawing sebesar 4,16%. Kemudian pengencer menggunakan AndroMed® (Perlakuan I) menghasilkan abnormalitas spermatozoa sebesar 2,74% saat before freezing dan menurun pada saat post thawing sebesar 2,41%. Pada pengencer OviXcell® (Perlakuan II) menghasilkan abnormalitas sebesar 1,34% saat before freezing dan mengalami peningkatan saat post thawing menjadi 2,98%. Hasil pengamatan abnormalitas pada penelitian menggunakan berbagai pengencer dari tahap before freezing maupun post thawing menunjukkan <5% mengindikasikan semen dalam kisaran normal. Nilai abnormalitas pada berbagai

pengencer dapat ditentukan oleh pembuatan preparat. Pembuatan preparasi sampel pengamatan abnormalitas sangat memengaruhi hasil perhitungan dari abnormalitas sebab didalam membuat preparat ulas memerlukan teknik khusus. Teknik yang harus diterapkan yaitu perbandingan tetesan antar spermatozoa dan pewarna eosin-nigrosin harus sama. Selain itu, kemiringan dalam mengulas sesuai anjuran yaitu 45° dan dianjurkan hanya satu kali ulas tanpa penekanan yang kuat. Teknik sekali ulasan harus dilakukan untuk menghindari kerusakan pada struktur spermatozoa, sebab jika lebih dari satu kali ulasan akan menimbulkan tidak meratanya semen dan pewarna eosin-nigrosin serta menimbulkan adanya tekanan yang berlebih. Selain pada teknik ulasan, kandungan komposisi gliserol yang berbeda. Persentase gliserol pada tris aminomethan kuning telur (Perlakuan 0) sebanyak 13% dan pengencer paten AndroMed® (Perlakuan I) dan OviXcell® (Perlakuan II) mengandung gliserol akan tetapi tidak disebutkan konsentrasi yang terkandung oleh produsen. Gliserol merupakan krioprotektan intraseluler yang memiliki sifat permeabel sehingga mampu keluar masuk membran karena berat molekulnya kecil.

Proses pembekuan semen menyebabkan cold shock pada spermatozoa yang mengakibatkan pembengkokan ataupun kelainan pada spermatozoa (Mekasha et al., 2007). Meningkatnya nilai abnormalitas disebabkan oleh lingkungan sekitar seperti kondisi suhu panas atau dingin. Selain itu, spermatozoa mengalami kerusakan apabila suhu terlalu panas maupun terlalu dingin. Hal ini sesuai dengan penelitian Elsheikh and Elhammali (2015) yang dilakukan pada persilangan kambing Saanen dan Nubian bahwa pada saat musim dingin, musim panas dan musim gugur persentase abnormalitas berturut-turut sebesar $9,20 \pm 0,25\%$, $11,00 \pm 0,66\%$ dan $4,90 \pm 0,45\%$ berpengaruh terhadap karakteristik semen terhadap suhu tinggi. Pada masing-masing perlakuan pengencer menghasilkan persentase abnormalitas menunjukkan semen beku layak untuk diaplikasikan pada inseminasi buatan.

Hasil pengamatan banyak ditemukan kelainan pada bagian kepala dan ekor yang seringkali terpisah. Wurlina et.al (2020) menyatakan bahwa didalam penelitiannya abnormalitas dapat ditemukan pada bagian kepala, leher dan ekor dengan persentase berturut-turut $10,35 \pm 0,45\%$, $8,63 \pm 0,38\%$ dan $9,49 \pm 0,64\%$. Hendri et al. (2017) melaporkan hasil penelitian pada kambing PE dengan umur 1-1,5 tahun dan 2-4 tahun

berturut-turut sebesar $5,70 \pm 2,70\%$ dan $6,70 \pm 2,10\%$. Nilai spermatozoa dengan rata-rata 5-10% masih dalam kisaran normal.

4. Kesimpulan dan Saran

4.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan berbagai pengencer layak digunakan sebagai pengencer dan mampu mempertahankan motilitas secara normal $>40\%$, daya tahan hidup dan kelainan spermatozoa ($<5\%$) terhadap pembekuan semen.

4.2. Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan pada penanganan dan prosesing semen akibat pengaruh perlakuan terhadap kualitas dan karakter motilitas semen beku kambing Saanen pada berbagai bangsa kambing

Daftar Pustaka

- Adhyatma, M., N. Isnaini dan Nuryadi. 2013. Pengaruh Bobot Badan Terhadap Kualitas dan Kuantitas Semen Sapi Simmental. *Jurnal Ternak Tropika*, 14(2):53-62
- Barek, M.E., K. Uly., W.M. Nalley., H.L.L. Bellu dan T.M. Hine. 2020. Pengaruh Penambahan Sari Wortel dalam Pengencer Sitrat Kuning Telur Terhadap Kualitas Spermatozoa Kambing Bligon. *Jurnal Nukleus Peternakan*, 7(2): 109-117
- Berghe F.V.D., M.C.J. Paris., M.B. Briggs., W.K. Farstad and D.B.B.P. Paris. 2018. A Two-Step Dilution Tris-Egg Yolk Extender Containing Equax STM Significantly Improves Sperm Cryopreservation in the African Wild Dog (*Lycaon pictus*). *Cryobiology*. 80:18-25. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2017.12.095>
- Elsheikh, A.S and N.S. Elhammadli. 2015. Semen Quality of Mature Crossbred Male Goats during Different Seasons. *Journal of Agriculture and Veterinary Science*. 8(9):1-5. <https://doi.org/10.970/2380-08920105>
- Hendri, M., G. Riady dan R. Daud. 2017. Hubungan Lingkar Skrotum dan Konsentrasi Spermatozoa Pada Kambing Peranakan Etawa (PE) Jantan. *JIMVET*, 2(1):41-50.
- Iskandari, N.N., S.P. Madyawati., P.A. Wibawati., T.W. Suprayogi., R.A. Prastiya dan B. Agustono. 2020. Perbandingan Pengencer Tris Kuning Telur dan Susu Skim Kuning Telur Terhadap Persentase Motilitas, Viabilitas dan Integritas Membran Plasma Spermatozoa Kambing Sapera Pada Penyimpanan Suhu 5°C . *Jurnal Medik Veteriner*, 3(2): 196-202

- Istanty, A.S., M.A. Salim., N. Isnaini dan T. Susilawati. 2017. Pengaruh Penggantian Bovine Serum Albumin (BSA) Dengan Putih Telur Dalam Pengencer Dasar CEP-2 Kualitas Semen Kambing Boer Pada Simpan Dingin. *Jurnal Ternak Tropika*, 18(1):1-9
- Kakati, U., S. Sinha., B.C. Deka., R.K. Biswas., M. Baruti., N. Nahardeka and R.S. Borah. 2019. Effect of Soybean Lecithin Based Extender and OviXcell® on Quality of Frozen Semen in Beetal, Sirohi and Assam Hill Goat. *International Journal of Livestock Research*. 9(1):95-109. <https://doi.org/10.5455/ijlr.20180509033715>
- Khalil, W.A., M.A. El-Hairiry., A.E.B. Zeidan., M.A.E. Hassan and O. Mohey-Elsaeed. 2018. Evaluation of Bull Spermatozoa during and After Cryopreservation: Structural and Ultrastructural Insight. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*. 6: 49-56. <https://doi.org/10.1016/j.ijvsm.2017.11.001>
- Kusumawati, E.D., H. Leondro., A.T. Nugroho., Krisnaningsih., T. Susilawati., N. Isnaini dan R. Widhad. 2016. Pengaruh dan Lama Simpan Semen Segar Terhadap Motilitas dan Abnormalitas Spermatozoa Kambing Peranakan Etawa (PE). *Seminar Nasional Hasil Penelitian*. 199-206
- Lupitasari, F.B.I., R.I. Anwar., D.A. Mahari dan M.S. Ningrum. 2020. Pengaruh Penambahan Maltosa Pada Pengencer Berbasis Lesitin Dalam Mempertahankan Kualitas Semen Cair Kambing. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*. 20(20): 375-385
- Mekasha, Y., A. Tegegne and H. Rodriguez-Martinez. 2007. Sperm Morphological Attributes in Indigenous Male Goats Raised Under Extensive Husbandry in Ethiopia. *Animal Reproduction*. 4(1):12-22
- Nadri T., A. Towhidi A, S. Zeinoaldini., F. Martínez-Pastor., M. Mousavi., R. Noei., M. Tar and A.M. Sangchesmeh. 2019. Lecithin Nanoparticles Enhance The Cryosurvival of Caprine Sperm. *Theriogenology*. 133: 38-44. <https://doi.org/1016/j.theriogenology.2019.04.024>
- Nisfimawardah, L., A. Firmawati., M.N. Ihsan., T. Susilawati and S. Wahjuningsih. 2023. Semen Cryopreservation Quality and Sperm Kinematics of Saanen Goats Using Different Diluents. *World's Veterinary Journal*. 13(2):300-309. <https://dx.doi.org/10.54203/scil.2023.wvj3>
- Nubatonis, A., T.I. Purwaningsih., Y. Oki dan B. Doarce. 2022. Evaluasi Spermatozoa Domba Jantan Berekor Tipis yang Digembalakan di Lahan Kering. *Jurnal Peternakan Indonesia*. 24(1): 55-65
- Perumal, P., S. Jai., A.K. De., D. Bhattacharya., A.K. Nahak., R. Vikram and E.B. Chakurkar. 2023. Seasonal Stress on Semen Quality Profiles, Seminal Biochemical and Oxidative Stress Atributes in Endangered Teressa Goat of Andaman and Nicobar Islands. *Asian Pacific Journal of Reproduction*. 12(6):288-298
- Putri, R.F., D.H. Hermawan dan Suyadi. 2019. Kualitas Semen Cair Kambing Boer Selama Penyimpanan Suhu Ruang dengan Penambahan Ekstrak Daun Kemangi (ocimum sanctum). *Prosiding Seminar Nasional teknologi Peternakan dan Veteriner*. 334-344

- Ratnawati, D., N. Isnaini dan T. Susilawati. 2017. Pemanfaatan CASA Dalam Observasi Motilitas Spermatozoa Semen Cair Sapi Madura Dalam Pengencer Berbeda. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*. 27(1):80-95
- Sumardani, N.L.G., K. Budaarsa., T.I. Putri dan A.W. Puger. 2019. Umur memengaruhi Volume Semen dan Motilitas Spermatozoa Babi Landrace di Balai Inseminasi Buatan Baturiti, Tabanan, Bali. *Jurnal Veteriner*. 20(3):324-329
- Susilawati, T. 2011. *Spermatologi*. Malang: Universitas Brawijaya Press
- Sun, L., W. Fan., C. Wu., S. Zhang., J. Dai and D. Zhang. 2020. Effect of Substituting Different Concentrations of Soybean Lecithin and Egg Yolk in Tris-based Extender on Goat Semen Cryopreservation. *Cryobiology*. 92:146-150. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2019.12.004>
- Suprayogi, T.W., S. Susilowati., T. Hernawati., F.G. Hafidha., C.A. Wening and A.B. Purnawan. 2022. Improved Quality of Kambing kacang Sexing Frozen Semen with Additon of Green Tea Extract. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*. 9(3):412-418. <http://doi.org/10.5455/javar.2022.i609>
- Vargas, D.H., M.C. Escobar., D.A. Davila., J.L. Pérez., J.M.M. Torres., W.D.C. Maya and H.C. Cadavid. 2023. Conventional and Functional Evaluation of Semen in Male Dairy Goats. *Veterinarska Stanica*. 54(2): 129-136
- Wajo, M.J. 2006. Peningkatan Kualitas Pengenceran dan Lama Penyimpanan Semen Ayam Kampung Melalui Penambahan Yolk Puyuh (*Conturnix conturnix japonica*). *Jurnal Ilmu Peternakan dan Veteriner Tropis (Journal of Tropical Animal and Veterinary Science)*. 1(2): 38-44
- Wajo, M.J., I. Widayati dan B.S. Ratlalaan. 2023. Penambahan Yolk Puyuh, Sari Pepaya (*Carica papaya* L.), Ringer's Serta Lama Penyimpanan Pada Suhu 5°C Terhadap Kualitas Spermatozoa Ayam KUB). *JIPVET*. 13(3): 160-161
- Wurlina, W., M. Hariadi., E. Safitri., S. Susilowati and D.K. Meles. 2020. The Effcet of Crud Guava Leaf Tannins on Motility, Viability and Intact Plasma Membrane of Stored Spermatozoa of Etawa Crossbred Goats. *Veterinary World*. 13(3):530-537. <https://doi.org/10.14202%2Fvetworld.2020.530-537>
- Yuan, Y., M. Yu., L. Chen., X. Ren., Y. Qu., A. Shari and G. Li. 2023. Comparative Analysis of Different Metabolies in Semen of Guanzhong Dairy Goats with Different Motility rates. *Theriogenology*. 210: 53-61. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2023.07.009>