

## PENGGANTIAN *BOVINE SERUM ALBUMIN* PADA PENGENCER CEP-2 DENGAN SERUM DARAH SAPI DAN PUTIH TELUR TERHADAP KUALITAS SEMEN CAIR SAPI LIMOUSIN SELAMA PENDINGINAN

*The Substitution of Bovine Serum Albumin with Cattle Blood Serum and Egg White in CEP-2 Diluent on the Quality of Limousin Bull Liquid Semen during Refrigerating*

Trinil Susilawati<sup>1\*</sup>, Feri Eka Wahyudi<sup>1</sup>, Inna Anggraeni<sup>1</sup>, Nurul Isnaini<sup>1</sup>, dan Muhammad Nur Ihsan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, Malang

\*Corresponding author: trinil\_susilawati@yahoo.com

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh penggantian *bovine serum albumin* (BSA) dengan serum darah sapi dan putih telur (PT) pada pengencer dasar *cauda epididymal plasma 2* (CEP-2) terhadap kualitas semen sapi Limousin selama pendinginan pada suhu 3-5°C. Materi penelitian yang digunakan yaitu semen sapi Limousin afkir (motilitas 50-60%) yang diperoleh dari Balai Besar Inseminasi Buatan Singosari Malang. Metode yang digunakan dalam penelitian menggunakan percobaan laboratorium dengan rancangan acak kelompok yang terdiri atas enam perlakuan dengan 10 kali ulangan, yaitu P0 (90% CEP-2 dengan BSA + 10% kuning telur); P1 (83,84% CEP-2 + 6,16% serum darah sapi + 10% kuning telur); P2 (81,84% CEP-2 + 8,16% serum darah sapi + 10% kuning telur); P3 (90% CEP-2 + 0,4% PT + 10% kuning telur); P4 (90% CEP-2 + 0,8% PT + 10% kuning telur); dan P5 (90% CEP-2 tanpa BSA + 10% kuning telur). Parameter yang diukur adalah persentase motilitas, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa. Persentase motilitas spermatozoa setelah penyimpanan 48 jam pada P0; P1; P2; P3; P4; dan P5 masing-masing adalah 40,50±5,99; 36,00±36,16; 34±6,58; 40,50±3,69; 38,50±3,37; dan 38,50±4,12%. Persentase viabilitas spermatozoa setelah penyimpanan 48 jam pada P0; P1; P2; P3; P4; dan P5 masing-masing adalah 75,16±4,30; 70,50±2,88; 73,80±2,80; 74,80±3,30; 75,13±3,13; dan 74,03±4,13%. Persentase abnormalitas spermatozoa setelah penyimpanan 48 jam pada P0; P1; P2; P3; P4; dan P5 masing-masing adalah 10,14±2,34; 10,62±1,34; 11,33±2,00; 10,94±2,82; 10,02±1,95; dan 10,78±1,96%. Dari hasil penelitian disimpulkan bahwa pengencer CEP-2 dengan atau tanpa BSA ditambah 10% kuning telur dan penggantian BSA dengan PT 0,4-0,8% dapat mempertahankan kualitas semen hingga jam ke-48 penyimpanan pada suhu dingin.

Kata kunci: abnormalitas, motilitas, putih telur, serum darah sapi, viabilitas

### ABSTRACT

*This study aims to determine the effect of the substitution of bovine serum albumin (BSA) with cattle blood serum and egg white in the diluent of Cauda epididymal Plasma 2 (CEP-2) on sperm quality of Limousin cattle during cooling at 3-5°C. The research material used was rejected Limousin bull sperm (motility of 50-60%) from Artificial Insemination Centre Singosari, Malang. This research was a laboratory experiment using a randomized block design which was composed of six treatments with 10 replications, those were T0 as controls (90% CEP-2 with BSA + 10% egg yolk); T1 (83.84% CEP-2 + 6.16% cattle blood serum + 10% egg yolk); T2 (81.84% CEP-2 + 8.16% cattle blood serum + 10% egg yolk); dan T3 (90% CEP-2 + 0.4% egg white + 10% egg yolk); T4 (90% CEP-2 + 0.8% egg white + 10% egg yolk); and T5 (90% CEP-2 without BSA + 10% egg yolk). Parameters measured were the percentage of motility, viability, and abnormality of sperms. Results of research after 48 hours of storage showed that the percentage of sperm motility in T0, T1, T2, T3, T4, and T5 were 40.50±5.90, 36±36.16, 34.00±6.58, 40.50±3.69, 38.50±3.37, and 38.50±4.12, respectively, while the percentage of sperms viability were 75.16±4.30, 70.50±2.88, 73.80±2.80, 74.80±3.30, 75.13±3.13, and 74.03±4.13, respectively, and the percentage of sperms abnormality were 10.14±2.34, 10.62±1.34, 11.33±2.00, 10.94±2.82, 10.02±1.95, and 10.78±1.96, respectively. In conclusion, CEP-2 diluent with or without the addition of 19% egg yolk in BSA and the substitution of BSA with 0.4-0.8% egg white can maintain semen quality to hour of 48 in cold storage.*

Key words: abnormality, motility, egg white, blood serum, viability

### PENDAHULUAN

Inseminasi buatan (IB) menjadi tidak efisien karena beberapa pejantan unggul tidak dapat ditampung semennya dan tingginya tingkat kerusakan membran spermatozoa akibat dari pembekuan (Nyuwita *et al.*, 2005). Salah satu permasalahan pada IB menggunakan semen beku adalah harus tersedia nitrogen (N<sub>2</sub>) cair, sebab sekali *straw* tidak terendam N<sub>2</sub> cair akan menyebabkan kematian spermatozoa (Ax *et al.*, 2008; Susilawati, 2013). Pemanfaatan semen cair untuk IB adalah salah satu solusi untuk meningkatkan keberhasilan IB. Proses penyimpanan pada suhu dingin dapat spermatozoa merusak struktural dan fungsi membran akibat terjadinya *cold shock* (Hafez, 2008).

Verberckmoes *et al.* (2004) berhasil menemukan pengencer *cauda epididymal plasma 2* (CEP-2) yang

mampu mempertahankan kualitas hingga lima hari. Pengencer CEP-2 memiliki komposisi kimia seperti NaCl, KCl, CaCl<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>6</sub>, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, fruktosa, sorbitol, *bovine serum albumin* (BSA), Tris, gentamisin, dan asam sitrat. Ducha *et al.* (2012) berhasil mempertahankan motilitas spermatozoa selama delapan hari pada suhu 2-5°C pada sapi Limousin. Susilawati *et al.* (2015) melaporkan penggunaan pengencer CEP-2 + 10% kuning telur (KT) pada sapi PO dapat bertahan hingga hari ke-7 dengan persentase motilitas sebesar 45,75±2,06%. Sumadisa *et al.* (2015) menggunakan pengencer CEP-2 + KT dan jus jambu dapat mempertahankan kualitas semen cair sapi bali hingga hari ke-8.

Albumin terdapat pada serum dan putih telur. Kaneko (1997) menjelaskan bahwa terdapat tiga fraksi utama protein dalam darah, yaitu albumin, globulin,

dan fibrinogen. Konsentrasi protein total serum pada hewan tersusun oleh albumin, yaitu sebesar 35-50%. Keberadaan serum bermanfaat untuk mencegah terjadinya pengerasan zona pelusida. Protein dalam serum mempunyai pengaruh terhadap perkembangan oosit karena kandungan *growth factor* yang terikat bersamanya. Albumin serum menyebabkan inaktivasi metabolisme toksik dari produksi oksigen radikal bebas dan menyatukan komponen yang lain, seperti steroid, vitamin, dan asam lemak (Luvoni *et al.*, 2004). Putih telur mengandung protein yaitu ovalbumin, ovomisin, dan globulin. Salah satu jenis protein dalam putih telur yang terbanyak (54% dari total protein putih telur) adalah ovalbumin (Stadelman dan Cotteril, 1994).

## MATERI DAN METODE

Materi penelitian yang digunakan yaitu semen sapi Limousin dari Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) Singosari Malang, berumur enam tahun yang ditampung setiap seminggu dua kali menggunakan vagina buatan. Semen yang digunakan memiliki kriteria motilitas massa ++ dan motilitas individu 50-55%. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode percobaan laboratorium dengan enam perlakuan dan sepuluh ulangan yaitu P0 (90% CEP-2 dengan BSA + 10% KT); P1 (83,84% CEP-2 + 6,16% serum darah sapi + 10% KT); P2 (81,84% CEP-2 + 8,16% serum darah sapi + 10% KT); P3 (90% CEP-2 + 0,4% putih telur + 10% KT), P4 (90% CEP-2 + 0,8% putih telur + 10% KT); dan P5 (90% CEP-2 tanpa BSA + 10% KT).

### Pembuatan Pengencer CEP-2

Sebanyak 15 mmol NaCl; 7 mmol KCl; 3 CaCl<sub>2</sub> (H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>; 3 mmol MgCl<sub>2</sub> (H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>; 11,9 mmol NaHCO<sub>3</sub>; 8 mmol/l, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 20 mmol/l KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 55 mmol/l fruktosa; 1 g/l sorbitol; 133,7 mmol/l Tris; 1000 IU penisilin; 1 g streptomisin dan 42,6 mmol asam sitrat, dimasukkan dalam Erlenmeyer kapasitas 1 liter dan ditambahkan *dionize water* sebanyak 1 liter dan diaduk dengan *stirrer* sampai merata. Selanjutnya, larutan disimpan di dalam refrigerator sampai akan digunakan dan ditambahkan BSA 2 g/l sesaat sebelum digunakan. Selanjutnya, pengencer CEP-2 ditambahkan KT sesuai perlakuan (Ducha *et al.*, 2012; Duchá *et al.*, 2013).

### Persiapan Pemanfaatan Serum Darah Sapi sebagai Pengganti BSA

Serum dibuat dari darah sapi yang diambil melalui vena *jugularis* dengan tabung eppendorf tanpa heparin dari sapi Limousin yang dipelihara di Laboratorium Lapang Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya di Sumber Sekar. Darah tersebut disentrifuga selama 20 menit 3.000 rpm. Bagian cairan yang bening diambil dan ditempatkan dalam tabung eppendorf 1,5 ml, kemudian dilakukan inaktivasi dengan menempatkan di atas air yang dipanaskan pada suhu 55° C selama 20 menit. Selanjutnya, disimpan dalam *freezer* untuk digunakan sewaktu-waktu dalam pembuatan pengencer.

### Persiapan Pemanfaatan Putih Telur sebagai Pengganti BSA

Telur ayam ras yang masih berumur maksimal tiga hari dipecah di atas cawan petri, kemudian putih telur yang encer dihisap dengan pipet dan ditempatkan di dalam tabung untuk ditambahkan di dalam pengencer. Pengambilan putih telur dilakukan saat akan digunakan pengencer.

### Parameter yang Diukur

Persentase motilitas dilakukan dengan cara menempatkan satu tetes semen pada obyek gelas dan ditutup menggunakan gelas penutup dan diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x (Susilawati, 2013) dan Ax *et al.* (2008). Uji viabilitas dilakukan dengan cara meneteskan semen pada gelas obyek. Eosin-negrosin diteteskan menggunakan ose lain, kemudian keduanya dicampur dan dibuat preparat ulas. Preparat kemudian diamati dengan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x. Spermatozoa yang masih hidup tidak berwarna, sedangkan yang sudah mati berwarna merah. Jumlah spermatozoa yang diamati sebanyak 200 spermatozoa. Pengamatan dilakukan tidak lebih 24 jam setelah dibuat *smear* (Ax *et al.*, 2008; Bansal dan Bilaspuri, 2008). Uji abnormalitas adalah hasil *smear* eosin-negrosin untuk viabilitas, dilanjutkan dengan pengamatan menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x. Cara menghitung abnormalitas adalah jumlah spermatozoa yang abnormal/total spermatozoa yang diamati dikalikan dengan 100% pada jumlah spermatozoa yang diamati yakni sebanyak 200 spermatozoa (Ax *et al.*, 2008; Susilawati, 2013).

### Analisis Data

Data dianalisis menggunakan analisis varian pola rancangan acak kelompok dan dilanjutkan dengan uji Duncan. Untuk membandingkan dengan nilai harapan (SNI) digunakan uji *chi-square* (BSN, 2005).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pemeriksaan Semen Segar

Rata-rata volume semen yang diperoleh dalam penelitian ini adalah 9,84±0,30 ml; motilitas massa ++; motilitas individu 52±1,92%; dan konsentrasi 1202,40±401,67 juta/ml. Volume dan konsentrasi semen masih pada kategori normal atau layak untuk diproses lebih lanjut, akan tetapi persentase motilitasnya di atas standar persentase motilitas yaitu >70%. Volume semen yang diperoleh sesuai dengan pendapat Garner dan Hafez (2008) yang menyatakan bahwa volume semen sapi bervariasi setiap penampungan antara 1-15 ml atau 5-8 ml per ejakulasi. Konsentrasi semen yang diperoleh sesuai dengan standar yaitu berjumlah ≥1.000 (10<sup>6</sup>) spermatozoa/ml (Susilawati, 2011).

### Persentase Motilitas Spermatozoa selama Pendinginan

Hasil penelitian menunjukkan motilitas semen mengalami penurunan selama penyimpanan seperti yang

disajikan pada Tabel 1. Pada awal pendinginan (jam ke-1), persentase motilitas spermatozoa tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P>0,05$ ). Pada penyimpanan jam ke-24, semua kelompok mengalami penurunan motilitas. Pada kelompok P1 dan P2 memberikan perbedaan yang nyata ( $P<0,05$ ) dibandingkan dengan perlakuan P0, P3, P4, dan P5. Di antara perlakuan P0 dan P5 tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ( $P>0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa peran BSA dalam pendinginan tidak besar. Kondisi ini berbeda dengan hasil penelitian Susilawati *et al.* (2011), bahwa terjadi penurunan yang drastis pada pengencer CEP-2 tanpa BSA dibandingkan pada pengencer CEP yang ditambah BSA. Pengencer CEP-2 yang dikembangkan oleh Verbackmoes *et al.* (2004) dan Verbackmoes *et al.* (2005) sama dengan komposisi ion, pH, maupun osmolaritas pada epididimis sehingga spermatozoa dapat disimpan seperti penyimpanan yang terjadi pada epididimis. Fosfolipid yang terkandung di dalam BSA berperan sebagai makromolekul/ekstraseluler krioprotektan yang melindungi membran spermatozoa pada proses pendinginan. Penyimpanan semen cair jam ke-48 pada perlakuan P4 dan P5 lebih rendah motilitasnya ( $P<0,05$ ) dibandingkan P0, sedangkan pada kelompok P1 dan P2 terjadi penurunan motilitas yang nyata ( $P<0,05$ ). Kelompok P3 tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P>0,05$ ) dengan P0, sehingga dapat dikatakan penambahan putih telur 0,4% dapat menggantikan BSA pada pengencer CEP-2 + 10% KT.

Penurunan persentase motilitas spermatozoa selama penyimpanan terjadi pada semua perlakuan karena

selama pendinginan terjadi metabolisma sel yang lambat, sehingga masih membutuhkan nutrisi untuk respirasi maupun metabolisme. Motilitas semen pada kelompok P0 dan P3 mampu bertahan di atas 40% (Standard SNI) pada penyimpanan jam ke-48, sedangkan pada perlakuan P1, P4 dan P5 di bawah 40%, meskipun masih berada dalam ketentuan Standar Nasional Indonesia (BSN, 2005).

Semua pengencer pada perlakuan ditambahkan KT karena berfungsi sebagai krioprotektan ekstraseluler yang melindungi spermatozoa pada proses pendinginan (Hafez, 2008; Susilawati, 2011). Kuning telur sering ditambahkan dalam pengencer karena terbukti dapat memperpanjang daya hidup spermatozoa sapi (Moce dan Graham, 2006). Kuning telur menambah fluiditas membran yang dapat meningkatkan kemampuan fertilisasi, mengubah fase transisi lipid selama terjadi perubahan suhu sehingga dapat mengurangi sensitivitas terhadap suhu dingin. Persentase motilitas yang memenuhi syarat untuk IB pada penelitian ini hanya sampai bertahan sampai hari ke-2. Hal ini disebabkan semen yang digunakan adalah dengan semen kualitas rendah.

**Persentase Viabilitas Spermatozoa selama Pendinginan**

Persentase viabilitas spermatozoa selama pendinginan pada berbagai kelompok mengalami penurunan seperti yang disajikan pada Tabel 2. Pola penurunan persentase viabilitas sama dengan persentase motilitas spermatozoa, yaitu pada

**Tabel 1.** Rata-rata ( $\pm$ SD) persentase motilitas spermatozoa sapi Limousin pada berbagai perlakuan dan lama penyimpanan (%)

Perlakuan	Jam ke-1	Jam ke-24	Jam ke-48
P0 (90% CEP-2 dengan BSA + 10% KT)	55,50 $\pm$ 2,84 <sup>a</sup>	45,50 $\pm$ 4,38 <sup>a</sup>	40,50 $\pm$ 5,99 <sup>a</sup>
P1 (83,84% CEP-2 + 6,16% serum darah sapi + 10% KT)	54,00 $\pm$ 3,33 <sup>a</sup>	42,00 $\pm$ 4,22 <sup>b</sup>	36,00 $\pm$ 5,16 <sup>c</sup>
P2 (81,84% CEP-2 + 8,16% serum darah sapi + 10% KT)	55,00 $\pm$ 3,33 <sup>a</sup>	42,00 $\pm$ 3,50 <sup>b</sup>	34,00 $\pm$ 6,58 <sup>c</sup>
P3 (90% CEP-2 + 0,4% putih telur + 10% KT)	54,00 $\pm$ 2,11 <sup>a</sup>	45,50 $\pm$ 4,38 <sup>a</sup>	40,50 $\pm$ 3,69 <sup>a</sup>
P4 (90% CEP-2 + 0,8% putih telur + 10% KT)	53,00 $\pm$ 3,50 <sup>a</sup>	44,50 $\pm$ 5,99 <sup>a</sup>	38,50 $\pm$ 3,37 <sup>b</sup>
P5 (90% CEP-2 tanpa BSA + 10% KT)	53,00 $\pm$ 2,58 <sup>a</sup>	44,00 $\pm$ 4,59 <sup>a</sup>	38,50 $\pm$ 4,12 <sup>b</sup>

<sup>a, b, c</sup>Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P<0,05$ ). CEP-2= *Cauda epididymal plasma 2*, KT= Kuning telur, BSA= *Bovine serum albumin*

**Tabel 2.** Rata-rata ( $\pm$ SD) persentase viabilitas spermatozoa sapi Limousin pada berbagai perlakuan dan lama penyimpanan

Perlakuan	Jam ke-1	Jam ke-24	Jam ke-48
P0 (90% CEP-2 dengan BSA + 10% KT)	79,62 $\pm$ 2,84 <sup>a</sup>	76,00 $\pm$ 3,05 <sup>a</sup>	75,16 $\pm$ 4,30 <sup>a</sup>
P1 (83,84% CEP-2 + 6,16% serum darah sapi + 10% KT)	81,85 $\pm$ 1,74 <sup>a</sup>	73,28 $\pm$ 2,75 <sup>b</sup>	70,50 $\pm$ 2,88 <sup>a</sup>
P2 (81,84% CEP-2 + 8,16% serum darah sapi + 10% KT)	81,64 $\pm$ 2,31 <sup>a</sup>	71,94 $\pm$ 2,67 <sup>b</sup>	73,80 $\pm$ 2,80 <sup>ab</sup>
P3 (90% CEP-2 + 0,4% putih telur + 10% KT)	80,82 $\pm$ 3,40 <sup>a</sup>	76,20 $\pm$ 2,51 <sup>a</sup>	74,80 $\pm$ 3,30 <sup>a</sup>
P4 (90% CEP-2 + 0,8% putih telur + 10% KT)	79,45 $\pm$ 2,63 <sup>a</sup>	76,30 $\pm$ 2,80 <sup>a</sup>	75,13 $\pm$ 3,13 <sup>a</sup>
P5 (90% CEP-2 tanpa BSA + 10% KT)	79,30 $\pm$ 2,09 <sup>a</sup>	76,40 $\pm$ 2,40 <sup>a</sup>	74,03 $\pm$ 4,13 <sup>a</sup>

<sup>a, ab, b</sup>Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P<0,05$ ). CEP-2= *Cauda epididymal plasma 2*, KT= Kuning telur, BSA= *Bovine serum albumin*

**Tabel 3.** Rata-rata ( $\pm$ SD) persentase abnormalitas spermatozoa sapi Limousin pada berbagai perlakuan dan lama penyimpanan

Perlakuan	Jam ke-1	Jam ke-24	Jam ke-48
P0 (90% CEP-2 dengan BSA + 10% KT)	8,77 $\pm$ 3,06	9,22 $\pm$ 3,40	10,14 $\pm$ 2,34
P1 (83,84% CEP-2 + 6,16% serum darah sapi + 10% KT)	8,34 $\pm$ 2,90	9,23 $\pm$ 2,41	10,62 $\pm$ 1,34
P2 (81,84% CEP-2 + 8,16% serum darah sapi + 10% KT)	8,29 $\pm$ 7,98	9,82 $\pm$ 2,13	11,33 $\pm$ 2,00
P3 (90% CEP-2 + 0,4% putih telur + 10% KT)	7,21 $\pm$ 2,90	9,40 $\pm$ 1,67	10,94 $\pm$ 2,82
P4 (90% CEP-2 + 0,8% putih telur + 10% KT)	7,88 $\pm$ 2,00	9,81 $\pm$ 1,40	10,02 $\pm$ 1,95
P5 (90% CEP-2 tanpa BSA + 10% KT)	8,31 $\pm$ 4,00	9,55 $\pm$ 2,22	10,78 $\pm$ 1,96

CEP-2= *Cauda epididymal plasma 2*, KT= kuning telur, BSA= *Bovine serum albumin*

pengamatan jam ke-1 tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P>0,05$ ). Pengamatan pada jam ke-24 dan jam ke-48 pada perlakuan P1 dan P2 menunjukkan penurunan secara nyata ( $P<0,05$ ) dibandingkan spermatozoa dengan pengencer P0, P3, P4, dan P5.

Putih telur karena mengandung albumin sebanyak 50% mampu melindungi spermatozoa pada proses pendinginan karena kandungan albumin di dalam putih telur lebih dari 50% dan terdapat kandungan kolesterol dan kandungan asam-asam amino (Stadelman dan Cotteril, 1994). Kolesterol, asam amino, dan kandungan nutrisi lainnya melindungi spermatozoa dan memberikan nutrisi pada spermatozoa untuk mempertahankan motilitasnya. Bansal dan Bilaspuri (2008) dan Bayemi *et al.* (2010) menyatakan bahwa lipid peroksidase di dalam pengencer akan melindungi membran spermatozoa sehingga motilitas dan viabilitas dapat dipertahankan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa serum yang mengandung BSA tidak bisa menggantikan kandungan murni BSA di dalam pengencer CEP-2 walaupun serum mengandung kolesterol yang dapat melindungi membran spermatozoa. Situmorang (2002) menyatakan bahwa kolesterol di dalam pengencer semen dapat mempertahankan daya hidup dan fertilitas spermatozoa sapi. Herdis *et al.* (2005) melakukan penelitian yang menunjukkan pada semua parameter kualitas semen yang diamati terjadi penurunan kualitas semen yang nyata dari tahap semen segar setelah empat hari penyimpanan pada suhu 5° C. Keadaan ini menunjukkan bahwa selama proses pengolahan dan penyimpanan terjadi perubahan fisik dan biokimiawi dari spermatozoa yang digunakan. Maxwell dan Watson (1996) mengatakan pada proses pengolahan semen, masalah yang sering timbul adalah rusaknya membran plasma spermatozoa akibat terbentuknya peroksidasi lipida. Rusaknya membran plasma menyebabkan penurunan motilitas spermatozoa dan akhirnya dapat berpengaruh terhadap daya hidup spermatozoa.

### Persentase Abnormalitas Spermatozoa selama Pendinginan

Persentase abnormalitas spermatozoa mengalami peningkatan selama penyimpanan pada semua perlakuan seperti yang disajikan pada Tabel 3. Persentase abnormalitas spermatozoa pada berbagai kelompok tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P>0,05$ ) pada pengamatan jam ke-1, jam ke-24, dan jam ke-48. Abnormalitas yang mengalami peningkatan adalah abnormalitas sekunder yaitu kelainan yakni putusnya antara ekor dengan kepala spermatozoa, dan bentuk ekor yang melingkar. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh reaksi *cold shock*, karena suhu dingin dan terdapat peningkatan radikal bebas di dalam cairan akibat sisa dari proses metabolisme spermatozoa. Zaenuri *et al.* (2013) dan Zaenuri *et al.* (2014) melaporkan bahwa selama penyimpanan terjadi peningkatan *superoxide dismutase* (SOD).

Menurut Garner dan Hafez (2008) abnormalitas spermatozoa terdiri atas dua macam yaitu abnormalitas primer dan sekunder. Abnormalitas primer yaitu

kelainan pada kepala spermatozoa (kepala besar, kepala kecil, kepala ganda, dan bentuk abnormal) sedangkan kelainan pada ekor adalah ekor spermanya dua atau bentuknya abnormal. Abnormalitas sekunder terjadi saat proses pendinginan atau saat preparasi untuk membuat ulas/*smear*. Pengencer CEP-2 + KT dan penambahan albumin mengandung bahan-bahan yang dapat mempertahankan tekanan osmosis spermatozoa sehingga kondisi yang isotonis inilah yang menyebabkan spermatozoa mempunyai integritas membran yang baik.

### KESIMPULAN

Pengencer CEP-2 dengan atau tanpa BSA ditambah 10% KT dan penggantian BSA dengan putih telur 0,4-0,8% dapat mempertahankan kualitas semen hingga jam ke-48 penyimpanan pada suhu dingin.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Pimpinan Balai Besar Inseminasi Buatan Singosari Malang yang memberikan fasilitas dan semen sapi Limousin yang digunakan dalam penelitian ini.

### DAFTAR PUSTAKA

- Ax, R., M. Dally, B. Didion, R. Lenz, C. Love, D. Varner, E.S.E. Hafez, and M. Bellin. 2008. Semen Evaluation. In **Reproduction in Farm Animal**. Hafez, E.S.E. (Ed.). 7<sup>th</sup> ed. Lea and Febiger, USA.
- Bansal, A.K. and G.S. Bilaspuri. 2008. Effect of manganese on bovine sperm motility, viability, and lipid peroxidation in vitro. **Anim. Reprod.** 5(3):90-96.
- Bayemi, P.H., I. Leinyuy, V.M. Nsongka, E.C. Webb, and A.L. Ebangi. 2010. Viability of cattle sperm under different storage conditions in Cameroon. **Trop. Anim. Health Prod.** 42(8):1779-1783.
- BSN. Badan Statistik Nasional. 2005. **Semen Beku Sapi**. Badan Standarisasi Nasional. SNI 01-4869.1-2005. BSN, Jakarta.
- Ducha, N., T. Susilawati, Aulanni'am, S. Wahyuningsih, and M. Pangestu. 2012. Ultrastructure and fertilizing ability of Limousin bull sperm after storage in CEP-2 extender with and without egg yolk. **Pakistan J. Biol. Sci.** 15(20):979-985.
- Ducha, N., T. Susilawati, Aulanni'am, dan S. Wahyuningsih. 2013. Motilitas dan viabilitas spermatozoa sapi Limousin selama penyimpanan pada refrigerator dalam pengencer CEP-2 dengan suplementasi kuning telur. **J. Ked. Hewan.** 7(1):5-8.
- Garner, D.L. and E.S.E. Hafez. 2008. **Spermatozoa and Seminal Plasma in Reproduction in Farm Animals**. 7<sup>th</sup> ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, USA.
- Hafez, E.S.E. 2008. Preservation and Cryopreservation of Gamet and Embryos. In **Reproduction Farm Animal**. Hafez, E.S.E. and B. Hafez (Eds.). 7<sup>th</sup> ed. Lippincott Williams and Wilkins, Maryland, USA.
- Herdis, M.R. Toelihere, I. Supriatna, B. Purwantara, dan Adikara. 2005. Optimalisasi kualitas semen cair domba garut (*Ovis aries*) melalui penambahan maltosa ke dalam pengencer semen Triskuning telur. **Media Kedokteran Hewan.** 21(2):88-92.
- Kaneko, J.J. 1997. Serum Proteins and the Dysproteinemias. In **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. Kaneko J.J., J.W. Harvey, and M.L. Bruss (Eds.). 5<sup>th</sup> ed. Academic Press, London, New York, Tokyo.
- Luvoni, G.C., S. Chigioni, B. Allievi, and D. Macis. 2004. Meiosis resumption of canine oocytes cultured in the isolated oviduct. **J. Dom. Anim.** 38(5):410-414.
- Maxwell, W.M.C. and P.F. Watson. 1996. Recent progress in the preservation of ram semen. **J. Anim. Repro. Sci.** 42:55-65.
- Moce, E. and J.K. Graham. 2006. Cholesterol-loaded cyclodextrins added to fresh bull ejaculate improve sperm cryosurvival. **J. Anim. Sci.** 84(4):826-833.

- Nyuwita, A., T. Susilawati, dan N. Isnaini. 2005. Kualitas semen segar dan produksi semen baku sapi Simental pada umur yang berbeda. **J. Ternak Tropika**. 16(1):61-68.
- Situmorang, P. 2002. Pengaruh kolesterol terhadap daya hidup dan fertilitas spermatozoa sapi. **JITV**. 7(4):251-258.
- Stadelman, W.J. and O.J. Cotteril. 1994. **Egg Science and Technology**. Food products Press An Imprint of the Haworth Press. Inc., New York, London.
- Sumadiasa, I.W.L., T. Susilawati, G. Ciptadi, and N. Isnaini. 2015. The potency of guava filtrate (*Psidium guajava* Linn) for preservation of Bali bull spermatozoa. **IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science (IOSR-JAVS)**. 8(5):51-57.
- Susilawati, T. 2011. **Spermatologi**. Universitas Brawijaya (UB) Press. Malang.
- Susilawati, T. 2013. **Pedoman Inseminasi Buatan pada Ternak**. Universitas Brawijaya (UB) Press. Malang.
- Susilawati, T., N.D. Costa, N. Isnaini, and M.N. Ihsan. 2015. Sperm quality difference of ongole crossbred cattle in some diluters during cooling process. **Proceeding The 36<sup>th</sup> Malaysian Society Animal Production Annual Conference** Negeri Sembilan, Malaysia:61-62.
- Verberckmoes, S., A. Van Soom, J. Dewulf, I. De Pauw, and A. De Kruif. 2004. Storage of fresh bovine semen in diluent based on the ionic composition *cauda epididymal plasma*. **J. Reprod. Dom. Anim.** 39(6):1-7.
- Verberckmoes, S., A. Van Soom, J. Dewulf, I. De Pauw, and A. De Kruif. 2005. Comparison of three diluents for the storage of Fresh bovine semen. **Theriogenology**. 63:912-922.
- Zaenuri L.A., T. Susilawati, S. Wahyuningsih, and S.B. Sumitro. 2014. Effect of additional crude extract of fig fruit (*Ficus carica* L.) into Tris egg yolk base extender on quality of buck semen. **J. Biol. Agric. Healthcare**. 4(9):21-27.
- Zaenuri, L.A., T. Susilawati, S.B. Sumitro, dan S. Wahyuningsih. 2013. Prospek sari buah tin lokal (*Ficus glumerata rob*) sebagai agen preservasi motilitas spermatozoa kambing. **J. Ked. Hewan**. 7(1):26-28.