

PENGARUH BERBAGAI KONSENTRASI GLISEROL PADA PENGECER SKIM KUNING TELUR TERHADAP MOTILITAS, VIABILITAS DAN ABNORMALITAS SEMEN BEKU SAPI LIMOUSIN**Susiana^{1*}, Umi Kalsum², Sumartono³**¹Balai Besar Inseminasi Buatan Singosari,²Fakultas Peternakan Universitas Islam Malang*Corresponding Email: susiana78euro@gmail.com**ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh konsentrasi gliserol pada pengencer skim kuning telur terhadap motilitas, viabilitas dan abnormalitas semen beku sapi Limousin. Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah semen beku yang berjumlah 6 straw masing-masing berjumlah tiga ekor dengan 2 kali ejakulasi dari BBIB Singosari. Metode penelitian yang digunakan adalah metode penelitian eksperimental dengan rancangan acak lengkap (RAL). Perlakuan pada kualitas semen dianalisis menggunakan uji ANOVA dan apabila terdapat perbedaan dilanjutkan dengan uji *Duncan's multiple range test* (DMRT). Variabel respon yang diamati adalah motilitas, viabilitas, dan abnormalitas semen. Berdasarkan hasil analysis of variance menunjukkan bahwa berbagai level gliserol berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap motilitas semen beku, tetapi berpengaruh tidak nyata ($P > 0,05$) terhadap viabilitas dan abnormalitas semen beku. Hasil perhitungan uji berganda Duncan diketahui bahwa perlakuan SK-Gliserol 17% ($47,02 \pm 6,5$ %) tidak berbeda dengan perlakuan SK-Gliserol 13% ($35,22 \pm 11,4$) dan SK-Gliserol 15% ($42,85 \pm 3,3$ %), namun perlakuan SK-Gliserol 17% lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan TK-Gliserol 13% dan SK-Gliserol 20%. Rata-rata hasil viabilitas TK-Gliserol 13%, SK-Gliserol 13%, SK-Gliserol 15%, SK-Gliserol 17% dan SK-Gliserol 20% secara berturut-turut yaitu 63.05, 74.12, 66.52, 71.98, serta 59.02 %. Hasil rata-rata abnormalitas semen beku sapi Limousin perlakuan TK-Gliserol 13% (9.13 %), SK-Gliserol 13% (4.33 %), SK-Gliserol 15% (3.73%), SK-Gliserol 17% (6.92 %) dan SK-Gliserol 20% (4.75 %). Dapat disimpulkan bahwa perlakuan pengencer skim kuning telur + gliserol 17% dapat melindungi kualitas semen beku sapi Limousin dengan nilai motilitas terbaik.

Kata Kunci : Abnormalitas; gliserol; Limousin; motilitas; viabilitas**EFFECT OF GLYCEROL CONCENTRATIONS IN YOLK-SKIM EXTENDERS ON MOTILITY, VIABILITY, AND ABNORMALITY OF FROZEN SEMEN OF LIMOUSINE BULL****ABSTRACT**

This study aimed to analyze the effect of glycerol concentration in yolk-skim (YS) extenders on motility, viability and abnormalities of frozen semen of Limousine bull. The material used in this study was frozen semen, which consisted of 6 straws, each of which come from three bulls with 2 ejaculations from Singosari National Artificial Insemination Center. This study used an experimental research method with a completely randomized design (CRD). The results showed that data treatments in semen quality were analyzed using the ANOVA and if there were differences, it was continued with Duncan's multiple range test (DMRT). The response variables observed were motility, viability, and semen abnormalities. Based on the results of analysis of variance showed that various levels of glycerol had a very significant effect ($P < 0.01$) on the motility of frozen semen, but not significant ($P > 0.05$) on the viability and abnormalities of frozen semen. Duncan's test showed that the treatment of YS-Glycerol 17% ($47.02 \pm 6.5\%$) was not different from the treatment of YS-Glycerol 13% (35.22 ± 11.4) and YS-Glycerol 15% ($42, 85 \pm 3.3$ %), but the YS-Glycerol 17% treatment was higher than the treatment of Yolk-Tris(YT)-Glycerol 13% and YS-Glycerol 20%. The average viability of YT-Glycerol 13%, YS-Glycerol 13%, YS-Glycerol 15%, YS-Glycerol 17% and YS-Glycerol 20% respectively were 63.05, 74.12, 66.52, 71.98, and 59.02%. The

average abnormality of frozen semen of Limousine bull treated with YT-Glycerol 13% was 9.13 %, YS-Glycerol 13% (4.33%), YS-Glycerol 15% (3.73%), YS-Glycerol 17% (6.92 %) and YS-Glycerol 20% (4.75%). It can be concluded that the treatment of yolk-skim + 17% glycerol can protect the quality of frozen semen of Limousin cattle with the best motility value.

Keywords: Abnormality, Glycerol, Limousin, Motility, Viability

PENDAHULUAN

Percepatan pertumbuhan populasi dan peningkatan produksi ternak sapi dan kerbau dalam negeri dilakukan Kementerian Pertanian dengan mengadakan program Sapi Kerbau Komoditas Andalan Negeri (Sikomandan). Sikomandan ini merupakan salah satu fokus kegiatan utama jajaran lingkup Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan (Ditjen PKH) Kementan. Sebagai catatan, selama tiga setengah tahun terakhir dalam kurun waktu antara tahun 2017 sampai dengan 27 Juli 2020 secara Nasional, program Sikomandan telah melakukan IB sebanyak 2.318.136 akseptor, bunting 1.359.094 ekor dan kelahiran sebanyak 1.394.446 ekor (antara kelahiran kembar dan tunggal). Dengan keberhasilan program tersebut maka terjadi lompatan populasi sapi dan kerbau yang cukup signifikan selama lima tahun terakhir, yaitu sebesar 3,37 juta ekor, sehingga populasi saat ini berjumlah 18,82 juta ekor (Anonimus, 2020).

Proses keberhasilan Inseminasi Buatan (IB) salah satunya tidak lepas dari kualitas semen beku yang digunakan. Proses pembuatan semen beku salah satunya dengan menambahkan pengencer sebagai sumber energi pada saat sperma dalam keadaan hidup. Fungsi bahan pengencer ialah merupakan sumber energi, melindungi spermatozoa terhadap kerusakan akibat pendinginan yang cepat, mencegah pengaruh yang merugikan seperti perubahan pH akibat terbentuknya asam laktat, mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit, menghambat pertumbuhan bakteri, meningkatkan volume semen sehingga dapat digunakan untuk inseminasi dan memproteksi sel spermatozoa selama pembekuan (Hafez, 2000). Kualitas sperma tidak hanya dipengaruhi oleh bibit dari pejantan tetapi juga dipengaruhi oleh pengenceran semen. Pengenceran merupakan cara yang dapat dilakukan untuk mempertahankan kualitas dan volume sperma selama penyimpanan. Menurut Toelihere (1993), penggunaan bahan pengencer semen harus mempertahankan viabilitas spermatozoa sebelum digunakan pada waktunya. Pengencer semen juga harus memungkinkan spermatozoa bergerak secara progresif, tidak bersifat racun terhadap spermatozoa, dapat melindungi spermatozoa dari kejutan dingin (*cold shock*).

Pengencer yang sering digunakan untuk pengenceran semen adalah Tris-kuning telur, sitrat-kuning telur, susu segar-kuning telur, skim-kuning telur, Andromed dan laktosa-kuning telur. Skim mengandung zat nutrisi yang dapat dimanfaatkan oleh spermatozoa sebagai sumber energi. Selain itu, Skim juga mengandung zat lipoprotein dan lesitin sehingga bisa digunakan dalam pengencer semen untuk melindungi spermatozoa dari pengaruh kejutan dingin (*cold shock*) dan air susu juga mengandung enzim yang hancur pada waktu pemanasan dimana pemanasan air susu di atas 80°C akan melepaskan gugusan *sulphydril* (-SH) yang berfungsi sebagai zat reduktif yang mengatur metabolisme oksidatif sperma. Bahan pengencer skim kuning telur merupakan salah satu bahan pengencer yang ditambahkan ke dalam sperma sapi. Skim mengandung zat nutrisi, lipoprotein dan lesitin untuk melindungi spermatozoa dari pengaruh kejutan dingin (*cold shock*) (Widjaya, 2011). Kuning telur mengandung lipoprotein untuk mencegah terjadinya *cold shock* pada saat proses pembekuan (Vishwanath and Shannon, 2000).

Bahan yang telah lazim ditambahkan dalam pengencer untuk mencegah pengkristalan dan melindungi dari kejutan dingin dalam sperma sehingga mampu meningkatkan daya hidup sperma adalah gliserol. Gliserol sebagai krioprotektan intraseluler dapat mempertahankan motilitas spermatozoa sapi pada saat *post thawing* (Diwan, Ayyappan, Lal, dan Lakra, 2010) serta dapat mencegah kematian dari spermatozoa pada saat dibekukan (Susilowati, Hardijanto, Suprayogi, Sardjito, dan Hernawati, 2010). Gliserol mampu berdifusi ke dalam sel sperma sehingga dapat mencegah kerusakan sel sperma saat proses pembekuan semen. Gliserol yang ditambahkan dalam pengencer harus optimal. Apabila berlebihan gliserol dapat menyebabkan perubahan tekanan osmotik yang akan berakibat dehidrasi sperma, karena kekurangan cairan

dalam sperma sehingga dapat meningkatkan kematian sel sperma akibat kerusakan organel-organel sel (Setiono, Sri, dan Purnama, 2015).

Penelitian mengenai konsentrasi gliserol ke dalam bahan pengencer skim kuning telur pada proses pembekuan semen sapi masih jarang dilakukan, tetapi pada pengencer yang lainnya sudah ada namun hasilnya bervariasi satu dengan yang lain. Penelitian tingkat konsentrasi gliserol pada media skim kuning telur telah dilakukan pada sperma ikan dengan konsentrasi gliserol 11%, 15%, dan 17% dengan hasil tidak berbeda nyata (Sudarno, Novianto dan Masithah, 2014), sedangkan untuk penambahan gliserol dengan konsentrasi 7% dalam pengencer CEP-D menghasilkan persentase motilitas paling baik (Sari, Tjandrakirana, dan Ducha 2014). Dari beberapa hasil penelitian diatas maka akan dilakukan penelitian perbedaan konsentrasi gliserol pada pengencer skim kuning telur terhadap motilitas, viabilitas dan abnormalitas semen beku sapi Limousin.

MATERI DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Seksi Produksi Semen dan Pengembangan IB di Balai Besar Inseminasi Buatan Singosari Malang. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Nopember – Desember tahun 2020.

Metode penelitian yang digunakan adalah metode penelitian eksperimental menggunakan data primer. Rancangan penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 5 perlakuan dan 6 ulangan : 1. perlakuan A atau semen + pengencer tris kuning telur + gliserol 13%; 2. perlakuan B atau semen + pengencer skim kuning telur + gliserol 13%; 3. perlakuan C atau semen + pengencer skim kuning telur + gliserol 15%; 4. perlakuan D atau semen + pengencer skim kuning telur + gliserol 17%; 5. Perlakuan E atau semen + pengencer skim kuning telur + gliserol 20%. Parameter (variabel respon) yang diamati meliputi motilitas, viabilitas dan abnormalitas semen beku pasca *thawing* sapi Limousin.

Prosedur Penelitian

Pembuatan Pengencer skim kuning telur dilakukan 1 hari sebelum pelaksanaan penelitian. Pengambilan semen segar sapi Limousin sebanyak 3 *bull* pada ejakulasi pertama, dilakukan pengujian semen segar secara makroskopis, mikroskopis (metode IVOS II untuk menguji motilitas, viabilitas dan abnormalitas) dan konsentrasi pada masing-masing sampel semen segar. Masing-masing sampel ditambahkan pengencer skim kuning telur pada proses pengenceran A1 (penambahan pengencer yang dilakukan setelah semen segar lolos uji makroskopis dan mikroskopis dengan perbandingan volume semen sama dengan volume pengencer) dan pengenceran A2 (Pengenceran yang dilakukan setelah semen cair mencapai suhu 4-5°C dengan rumus sebagai berikut :

Jumlah pengencer sebanyak:

$$\text{Volume A2} = \frac{1}{2} \text{ volume total} - (\text{volume semen A1} + \text{volume pengencer A1})$$

Rumus pengenceran semen:

$$\text{Volume total} = \frac{\text{Volume semen} \times \text{Konsentrasi Semen}}{\text{Konsentrasi semen 1 mL} \left(\frac{25 \times 10^6 \times 1}{0,25 \text{ mL}} \right)}$$

Perlakuan gliserol dilakukan pada penambahan pengencer B (Pengencer yang ditambahkan setelah semen cair dilakukan proses penyimpanan selama 18 - 21 jam dengan menambahkan pengencer + gliserol sesuai dengan perlakuan). Penambahan kadar gliserol dalam perlakuan dalam pengencer B sesuai perlakuan. Pengujian motilitas, viabilitas dan abnormalitas pada semen beku.

Analisis Data

Analisa data yang digunakan adalah uji anova satu arah dengan batas kritis atau tingkat signifikansi yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$ (5%) menggunakan program analisis statistik SPSS V.25 untuk windows.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil *analysis of variance* menunjukkan bahwa motilitas semen beku pada berbagai level gliserol terdapat pengaruh yang sangat nyata ($P < 0,01$), sedangkan viabilitas dan abnormalitas semen beku tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$) antara perlakuan. Hasil perhitungan uji berganda Duncan diketahui bahwa Perlakuan SK-Gliserol 17% ($47,02 \pm 6,5$ %) tidak berbeda dengan perlakuan SK-Gliserol 13% ($35,22 \pm 11,4$), SK-Gliserol 15% ($42,85 \pm 3,3$ %), namun perlakuan SK-Gliserol 17% lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan TK-Gliserol 13% dan SK-Gliserol 20%. Hasil *Analysis of variance* dari viabilitas dan abnormalitas semen beku tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) antara perlakuan. Rata-rata viabilitas TK-Gliserol 13%, SK-Gliserol 13%, SK-Gliserol 15%, SK-Gliserol 17% dan SK-Gliserol 20% secara berturut-turut yaitu 63.05, 74.12, 66.52, 71.98, serta 59.02 %. Rata-rata abnormalitas semen beku sapi Limousin perlakuan TK-Gliserol 13% (9.13 %), SK-Gliserol 13% (4.33 %), SK-Gliserol 15% (3.73%), SK-Gliserol 17% (6.92 %) dan SK-Gliserol 20% (4.75 %). Rata-rata motilitas, viabilitas dan abnormalitas semen beku sapi Limousin dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kualitas semen beku sapi Limousin

Perlakuan	Motilitas (% $\pm$ SD)	Viabilitas (% $\pm$ SD)	Abnormalitas (% $\pm$ SD)
A	$35,22 \pm 11,4^{ab}$	$63,05 \pm 26,5$	$9,13 \pm 5,8$
B	$42,85 \pm 3,9^{bc}$	$74,12 \pm 11,7$	$4,33 \pm 3,2$
C	$42,85 \pm 3,3^{bc}$	$66,52 \pm 15,4$	$3,73 \pm 3,2$
D	$47,02 \pm 6,5^c$	$71,98 \pm 15,3$	$6,92 \pm 3,2$
E	$31,27 \pm 3,0^a$	$59,02 \pm 17,5$	$4,75 \pm 2,9$

Keterangan: Huruf *superscript* pada perlakuan berbagai level gliserol berbeda sangat nyata menunjukkan adanya perbedaan sangat nyata ($P < 0.01$).

Motilitas merupakan salah satu karakteristik yang sangat penting, karena berhubungan dengan kemampuan spermatozoa untuk membuahi oosit (Setiyono dkk., 2020). Berdasarkan hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada pembekuan semen beku sapi Limousin, level gliserol 13, 15 dan 17% pada pengencer skim kuning telur cukup memadai untuk melindungi spermatozoa dari kerusakan sel. Perlakuan penambahan level gliserol 13, 15 dan 17 % pada pengencer skim kuning telur menghasilkan rata-rata motilitas (42,85%, 42,85%, 47,02%) dan rata-rata dari semen beku sapi Limousin layak untuk di inseminasi buatan. Hal ini didasari oleh Anonimus (2017) tentang standarisasi nasional mengenai semen beku pada sapi bahwa standar motilitas layak IB pada semen beku ristal kerbau yang telah dicairkan kembali (*post-thawing*) minimal 40%. Hal tersebut dapat memberikan informasi bahwa pengencer skim kuning telur dengan penambahan gliserol 17% mampu menjaga kelangsungan hidup spermatozoa selama *prosesing* semen beku, sebab gliserol merupakan krioprotektan intraseluler dan dapat berdifusi ke dalam sel-sel spermatozoa serta melindungi spermatozoa dari efek ristal pembekuan (Ihsan, 2013). Menurut Solihati dkk., (2018), gliserol dapat berdifusi menembus dan memasuki sel spermatozoa, memilih daya pengikat air yang kuat, sehingga pengaruh perlindungannya yaitu mampu mencegah terjadinya dehidrasi yang ditimbulkan oleh *cold shock* dengan cara menggantikan air yang keluar dari dalam sel saat pembekuan,

Secara mekanisme, gliserol berdifusi ke dalam sel spermatozoa karena gliserol dapat larut dalam lemak (Sari dkk., 2014) dan dapat di metabolisir dalam proses-proses yang menghasilkan energi serta pembentukan fruktosa yang selanjutnya dirombak menjadi asam lemak, fruktosa yang tersedia ini dapat menyebabkan spermatozoa tetap bergerak karena fruktosa dapat berperan dalam menghasilkan energi berupa ATP (Mumu, 2009). Motilitas sendiri sangat bergantung pada ATP yang merupakan pasokan energi hasil ristal fruktosa yang berasal

dari perombakan gliserol, sehingga gliserol yang mampu menghasilkan energi berupa ATP akan mampu mempertahankan motilitas spermatozoa (Islamiati dkk., 2016).

Hasil perhitungan ristal dengan uji berganda *Duncan* diketahui bahwa motilitas *post-thawing* pengencer skim kuning telur dengan penambahan gliserol 17% lebih unggul dibandingkan dengan pengencer tris kuning telur dengan tambahan gliserol 13% dan pengencer skim kuning telur yang ditambahkan gliserol sebanyak 20%. Motilitas *post-thawing* pada spermatozoa dari pengencer skim kuning telur gliserol 20% dari 17% terjadi penurunan motilitas dari 47,02% ke 31,27%. Kondisi tersebut menandakan bahwa dosis gliserol 20% pada skim memberikan efek toksik bagi spermatozoa. Efek toksik dapat terjadi tekanan ristal pada larutan pengencer seiring bertambahnya dosis gliserol (Setiono dkk., 2015). Menurut Mumu (2009), gliserol dapat memberikan perlindungan yang efektif terhadap spermatozoa apabila konsentrasinya di dalam pengencer optimal dan apabila tidak dapat menyebabkan penurunan kualitas spermatozoa.

Tekanan ristal harus dipertahankan selama proses pembekuan semen karena bila tidak dipertahankan akan mengakibatkan tekanan ristal di dalam dan di luar sel berbeda, oleh sebab itu air dapat mengalir ke daerah yang bertekanan ristal tinggi (Siswanto, 2006). Proses tersebut dapat menyebabkan sel mengalami dehidrasi dan kematian sel karena di dalam sel akan keluar sebagai dampak dari sifat gliserol yang mengikat air serta perubahan osmolaritas larutan (Siswanto, 2006). Kondisi tersebut disebabkan karena pengencer menjadi hiperdonik dan molekul-molekul atau partikel-partikel diluar sel lebih banyak dari pada di dalam sel (Mumu, 2009). Spermatozoa dapat mengalami kerusakan pada ristal plasma karena gejala kejutan ristal sehingga proses ristal terganggu dan pada akhirnya dapat menurunkan motilitas spermatozoa (Mumu, 2009).

Hasil analisis ANOVA diketahui bahwa penambahan gliserol berbagai level pada pengencer tris kuning telur dan pengencer skim kuning telur tidak menunjukkan perbedaan antar perlakuan terhadap persentase viabilitas semen beku sapi Limousin. Hasil tersebut sesuai dengan pendapat Kusumaningrum, Purwantara, Yusuf, dan Situmorang (2015) dan (Mumu, 2009) bahwa penambahan gliserol dengan konsentrasi 4-7% tidak berpengaruh terhadap viabilitas semen beku sapi Simmental dan FH setelah pembekuan. Hal tersebut dapat mengindikasikan bahwa penggunaan level gliserol 13-20% pada pengencer skim kuning telur dan 13% pada pengencer tris kuning telur memberikan pengaruh yang sama terhadap persentase hidup spermatozoa. Menurut Tambing (1999), gliserol dapat memberikan efek perlindungan dengan menjaga keseimbangan elektrolit intra dan ekstra seluler sehingga proses biokimia yang terjadi di dalam sel spermatozoa tetap berlangsung dan mengurangi kematian sel spermatozoa yang berlebihan. Efek perlindungan dapat terjadi karena pada saat penambahan gliserol akan terjadi reaksi ristal dengan sel akan kehilangan air, selanjutnya sel mengabsorpsi krioprotektan gliserol ke dalam sel mengakibatkan berkurangnya air intraseluler sehingga pembentukan ristal es intraseluler berkurang (Sari dkk., 2014). Gliserol juga memodifikasi ristal-kristal es yang terbentuk dan menghambat kerusakan ristal sel secara mekanis pada waktu penurunan suhu selama pembekuan sehingga kerusakan organel-organel sel spermatozoa seperti lisosom mitokondria dapat dihindari (Tambing 1999). Oleh sebab itu, rantai oksidasi tidak terputus dan proses ristal tetap berlangsung yang menyebabkan perlindungan yang efektif (Solihati dkk., 2018).

Abnormalitas spermatozoa merupakan salah satu parameter *post-thawing* yang penting karena dapat berpengaruh terhadap fertilitas spermatozoa dalam membuahi sel telur (Tambing dkk., 2003). Berdasarkan analisis ANOVA diketahui bahwa penambahan gliserol berbagai level pada pengencer tris kuning telur dan pengencer skim kuning telur tidak menunjukkan perbedaan antar perlakuan terhadap persentase abnormalitas semen beku sapi Limousin. Persentase abnormalitas semen beku sapi Limousin pada perlakuan TK-Gliserol 13%, SK-Gliserol 13%, SK-Gliserol 15%, SK-Gliserol 17% dan SK-Gliserol 20% secara berturut-turut adalah 9,13%, 4,33%, 3,73%, 6,92 % dan 4,75%. Persentase abnormalitas pada penelitian ini tergolong normal. Penelitian Garner dan Hafez (2000) yang menyatakan bahwa abnormalitas spermatozoa jumlahnya tidak melebihi 20% dari total spermatozoa agar tidak mempengaruhi fertilitas. Hasil ini sesuai dengan pendapat Islamiati dkk. (2016) bahwa pemberian gliserol lebih dari 8% mampu mengurangi peningkatan abnormalitas yang terjadi akibat peroksidasi lipid.

Peroksida lipid adalah kerusakan pada ristal yang diakibatkan terjadi reaksi antara asam lemak tak jenuh dan juga radikal bebas. Peroksida lipid menyebabkan kerusakan pada ristal plasma pada bagian tengah atau midpiece yang di dalamnya terdapat mitokondria yang terlibat dalam pembentukan energi, oksidasi asam lemak dan siklus krebs (Wilandari, Abdul dan Ibrahim, 2013).

Penambahan gliserol pada pengencer dapat meminimalisir kerusakan ristal plasma akibat peroksidasi lipid, dengan cara mengikat gugus fosfolipid sehingga mengurangi ketidakstabilan ristal dan dapat berinteraksi dengan ristal untuk mengikat protein dan glikoprotein (Parks dan Graham, 1992), dengan kemampuan gliserol dalam meminimalisir kerusakan ristal plasma maka akan mengurangi peningkatan abnormalitas yang disebabkan oleh adanya peroksidasi lipid (Islamiati dkk., 2016). Mekanisme kerja dari gliserol yang lain adalah dengan mengubah bentuk dan ukuran ristal es yang terbentuk sehingga mengurangi tekanan mekanik dan menurunkan titik beku medium sehingga ristal es tidak terbentuk dan merusak organel sel spermatozoa (Tambing, 1999).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, penulis menyimpulkan bahwa pada perlakuan pengencer skim kuning telur + gliserol 17% dapat melindungi spermatozoa sapi Limousin selama proses pembekuan dengan nilai motilitas lebih baik dibandingkan pengencer tris kuning telur yang ditambahkan gliserol 13% dan pengencer skim kuning telur + gliserol 20%.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus. 2017. SNI 4869.1-Semen beku-Bagian 1 : Sapi dan Kerbau. Badan Standarisasi Nasional, Jakarta.
- Anonimus. 2020. Program “SIKOMANDAN”: Dongkrak Keberhasilan IB Sekaligus Populasi Kerbau Indonesia. Diakses pada 19 Juni 2021, dari (<https://ditjenak.pertanian.go.id/program-sikomandan-dongkrak-keberhasilan-ib-sekaligus-populasi-kerbau-indonesia>).
- Diwan, A. D., Ayyappan, S., Lal, K. K., dan Lakra, W. S. 2010. Cryopreservation of fish gametes and embryos. *The Indian Journal of Animal Sciences*, 80(4), 109-124.
- Hafez, E. S. E. 2000. Preservation and cryopreservation of gametes and embryos. In: B. Hafez and E. S. E Hafez (Ed) *Reproduction in Farm Animals*. 7th edition. Lippincot Williams & Wilkins. Philadelphia.
- Hoesni, F. 1997. Efek Penggunaan Susu Skim Dengan Pengencer Tris Kuning Telur Terhadap Daya Tahan Hidup Spermatozoa Sapi
- Ihsan, M. N. 2013. Pembekuan vitrifikasi semen kambing boer dengan tingkat gliserol berbeda. *Journal of Tropical Animal Production*, 14(2), 38-45.
- Islamiati, M. U., Darodjah R. S., dan Soeparna. 2016. Pengaruh level gliserol dalam pengencer tris-sitrat kuning telur terhadap motilitas dan abnormalitas sperma kambing Peranakan Etawah post thawing. *Students e-Journal*, 5(2).
- Kusumaningrum, D. A., Purwantara, B., Yusuf, T. L., dan Situmorang, P. 2015. Microencapsulation of bovine spermatozoa: Cryopreservation of microencapsulation sperm using gliserol. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*, 20(4), 233-241.
- Mumu, I. M. 2009. Viabilitas semen sapi Simmental yang dibekukan menggunakan

- krioprotektan gliserol. *Journal Agroland*. 16 (2): 172-179.
- Parks, J. E., dan Graham, J. K. 1992. Effects of cryopreservation procedures on sperm membrans. *Theriogenology*. 38:209-222.
- Sari, D. O., Tjandrakirana, dan Ducha N. 2014. Pengaruh Berbagai Konsentrasi Gliserol dalam Pengencer Cep-D terhadap Motilitas Spermatozoa Sapi Brahman yang Disimpan dalam Nitrogen Cair. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 3(3).
- Setiono, N., Sri. S., dan Purnama. E.S. 2015. Kualitas Semen Beku Sapi Brahman Dengan Dosis Krioprotektan Gliserol Yang Berbeda Dalam Bahan Pengencer Tris Sitrat Kuning Telur. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*
- Setiyono, A., Setiadi, M. A., Kaiin, E. M., dan Karja, N. W. K. 2020. Pola Gerakan Spermatozoa Sapi setelah Diinkubasi dalam Media Fertilisasi dengan Imbuhan Heparin dan/atau Kafein. *Jurnal Veteriner* September, 21(3), 458-469.
- Siswanto, 2006. Kualitas Semen di dalam Pengencer Tris dan Natrium Sitrat dengan Berbagai Sumber Karbohidrat dan Level Gliserol Pada Proses Kriopreservasi Semen Rusa Timor (*Cervus timorensis*). Tesis. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Solihati, N., Rasad, S. D., Setiawan, R., dan Nurjanah, S. 2018. Pengaruh kadar gliserol terhadap kualitas semen domba lokal. *Jurnal Biodjati*, 3(1), 63-71.
- Sudarno, S., Novianto, B. R., dan Masithah, E. D. 2014. Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Gliserol dalam Susu Skim Kuning Telur untuk Proses Penyimpanan Sperma Beku terhadap Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Ikan Patin (*Pangasius pangasius*). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 6(1), 1-6.
- Susilowati, S. Hardijanto, T. W. Suprayogi, T. Sardjito, dan T. Hernawati. 2010. Penuntun Praktikum Inseminasi Buatan. Airlangga University Press. Surabaya.
- Tambing, S. N. 1999. Efektivitas Berbagai Dosis Gliserol di Dalam Pengencer Tris dan Waktu Ekuilibrasi terhadap Kualitas Semen Beku Kambing Peranakan Etawah. Tesis. IPB. Bogor. 1-124
- Tambing, S.N., I-K. Utama dan R.I. Arifiantini. 2003. Efektivitas berbagai konsentrasi laktosa dalam pengencer Tris terhadap viabilitas semen cair kambing Saanen.
- Toelihere, M. R., 1993. Fisiologi Reproduksi Pada Ternak. Angkasa, Bandung.
- Vishwanath, R. dan P. Shannon. 2000. Storage of Bovine Semen in Liquid Frozen State. *Animal Reproduction Science*, 62 : 23-53.
- Widjaya, N. 2011. Pengaruh Pemberian Susu Skim dengan Pengencer Tris Kuning Telur terhadap Daya Tahan Hidup Spermatozoa Sapi pada Suhu Penyimpanan 5°C. Sains Peternakan
- Wilandari, T. D, A. Abdul dan M. Ibrahim. 2013. Pengaruh Pemberian Ekstrak Sarang Semut (*Myrmecodia pendens* Merr & Perry) Terhadap Morfologi Spermatozoa Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L) yang Dipapar Asap Rokok. Universitas Negeri Gorontalo.