

# Kualitas Semen Kerbau pada Waktu Ekuilibrasi dan Inkubasi yang Berbeda dalam Larutan Hipoosmotik Swelling TEST

(Semen quality of buffalo at different equilibration and incubation period in hypoosmotic solution of swelling TEST)

Yendraliza<sup>1</sup>, Eka Yuliana<sup>1</sup>, Muhammad Rodiallah<sup>1</sup>, dan Zumarni<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Pertanian dan Peternakan, Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim

**ABSTRAK** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui waktu ekuilibrasi yang terbaik semen kerbau menggunakan pengencer andromed dan mengetahui nilai membran plasma utuh semen kerbau dalam larutan hipoosmotik pada waktu pemeraman yang berbeda. Penelitian ini terdiri dari dua tahap; Tahap pertama menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan dan 5 ulangan. Perlakuan terdiri dari waktu ekuilibrasi 3 jam, 4 jam dan 5 jam. Parameter yang diukur adalah motilitas, sperma hidup dan abnormalitas. Penelitian tahap kedua menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dua faktor dengan 3 perlakuan dan 5 ulangan. Faktor pertama adalah waktu ekuilibrasi yang terdiri dari 3 jam, 4 jam dan 5 jam. Faktor kedua adalah waktu pencampuran semen dengan

larutan hipoosmotik yang terdiri 15 menit, 30 menit dan 45 menit. pengencer yang digunakan Andromed<sup>(R)</sup> (Minitube Germany, 13503/0200). Parameter yang diukur adalah persentase membran plasma utuh semen kerbau. Hasil penelitian yang didapatkan bahwa waktu ekuilibrasi terbaik adalah 4 jam dan 5 jam dengan nilai motilitas 62,8-63,7%, sperma hidup 66,7-66,8% dan persentase abnormalitas 10,5-11,2%. Waktu HOS test yang terbaik adalah 45 menit dan waktu ekuilibrasi 5 jam dengan nilai MPU (64,7 : 57,7%). Kesimpulan penelitian ini adalah waktu ekuilibrasi semen kerbau menggunakan pengencer andromed adalah 5 jam dengan waktu pemeraman dalam larutan hipoosmotik adalah 45 menit.

**Kata kunci :** Abnormalitas, membran plasma utuh, motilitas, sperma hidup.

**ABSTRACT** The aimed of this study was to find out the best equilibration time of buffalo semen used andromed diluents and the optimal time to test the integrity of plasma membrane of buffalo semen using a hypoosmotic swelling test (HOS test). This study consists of two stages; the first step was used a Completely Randomized Design (CRD) with 3 treatments and 5 replications. The treatments were equilibration time of 3 hours, 4 hours and 5 hours. The parameters measured were motility, live sperm, and abnormalities. The second stage of the study used a two-factor Completely Randomized Design (CRD) with 3 treatments and 5 replications. The first factor was the equilibration time of 3 hours, 4 hours and 5 hours. The second factor was the time

of semen mixing with a hypoosmotic solution of 15 minutes, 30 minutes and 45 minutes. diluents used by Andromed<sup>(R)</sup> (Minitube Germany, 13503/0200). The parameters measured were the percentage of the integrity of the plasma membrane of buffalo semen. The results showed that the best equilibration time was 4 hours and 5 hours with motility values 62.8-63.7%, live sperm 66.7-66.8% and percentage abnormalities 10.5-11.2%. The best HOS test time is 45 minutes and the equilibration time is 5 hours with MPU value (64.7: 57.7%). The conclusion of the research is that the equilibration time of buffalo semen using andromed diluents was 5 hours with the mixing time in the hypoosmotic solution being 45 minutes.

**Keywords :** Abnormality, integrity of membrane plasma, live sperma, motility

2019 Jurnal Agripet: Vol (19) No.1 : 22-30

## PENDAHULUAN

Inseminasi buatan (IB) pada kerbau di Indonesia telah dimulai sejak tahun 1978.

Namun perkembangannya tidak secepat perkembangan IB pada sapi. Salah satu penyebabnya adalah kurang tersedianya semen beku dari pejantan unggul (Toelihere, 1985). Selain itu minat peneliti pada kerbau masih

Corresponding author: yendraliza@uin-suska.ac.id  
DOI: <https://doi.org/10.17969/agripet.v19i1.13191>

sedikit dibandingkan sapi, sehingga penelitian kerbau jauh tertinggal dibandingkan sapi.

Salah satu penyebab rendahnya angka kebuntingan hasil perkawinan IB pada kerbau diduga karena rendahnya mutu semen kerbau. Hal ini disebabkan karena spermatozoa kerbau lebih mudah rusak dibandingkan spermatozoa sapi pada saat pembekuan (Goyal *et al.*, 1996). Adanya kejutan dingin pada pembekuan semen menambah kerusakan pada semen kerbau. Salah satu solusi dalam masalah ini adalah mencari waktu yang tepat dalam proses ekuilibrasi semen kerbau guna meminimalisir kematian sperma setelah pembekuan.

Pergerakan spermatozoa dipengaruhi oleh integritas struktur morfologi spermatozoa (Singh and Balhara, 2016). Membran plasma berfungsi sebagai pelindung spermatozoa terhadap berbagai perubahan lingkungan, disamping sebagai unsur transpor dari dalam sel keluar sel atau sebaliknya. Apabila membran plasma mengalami kerusakan, maka proses tersebut tidak akan dapat berlangsung secara normal sehingga akan menurunkan kualitas spermatozoa. Untuk menguji keutuhan membran plasma dapat dilakukan uji khusus yang disebut *Hypoosmotic Swelling* (HOS) *Test* (Jeyendran *et al.*, 1984). Pengujian membran plasma sangat penting dilakukan karena dalam pembekuan semen ada bahan pengencer dan krioprotektan yang dapat menghambat reaksi antara sperma dengan larutan hiposmotik sehingga waktu optimal terhadap keutuhan membran plasma perlu diuji. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan waktu ekuilibrasi yang terbaik menggunakan pengencer andromed dan menentukan waktu yang paling optimal untuk pengujian keutuhan membran plasma spermatozoa semen cair kerbau (*Bubalus bubalis*) di dalam inkubator dengan metode *Hypoosmotic Swelling* (HOS) *Test*.

## MATERI DAN METODE

Semen yang digunakan dalam penelitian ini adalah semen dari ternak kerbau umur 4 tahun yang berasal dari BIB Tuah Sakato Payakumbuh Sumatera Barat. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah

pengencer Andromed<sup>(R)</sup> (Minitue Germany, 13503/0200), aquades, nitrogen cair, natrium sitrat, fruktosa, asam sitrat, alkohol, gliserol, *vaselin*, air hangat, dan eosin untuk pengamatan sperma hidup dan mati. Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah mikroskop (Olympus CH 20), *water bath*, *countainer*, *object* dan *cover glass*, kertas lakmus, *beaker glass*, termometer, tissue, tabung *eppendorf*, mikropipet, meja pemanas, *straw*, lemari pendingin, gunting, pinset, timbangan analitik, dan *sterilizer 27°C*.

Penelitian ini dilakukan dua tahap. Tahap pertama melihat kualitas semen kerbau menggunakan pengencer andromed dengan waktu ekuilibrasi yang berbeda. Tahap ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan dan 5 ulangan. Tahap kedua mencari waktu hiposmotik yang tepat dengan waktu ekuilibrasi yang berbeda. Tahap kedua menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dua faktor dengan 3 perlakuan dan 5 ulangan. Faktor pertama adalah waktu ekuilibrasi yang terdiri dari 3 jam, 4 jam dan 5 jam. Faktor kedua adalah waktu hiposmotik yang terdiri dari waktu hiposmotik 15 menit, 30 menit dan 45 menit.

### Persiapan Bahan Pengencer Andromed

Bahan pengencer andromed dari minitube German diencerkan dengan aquabides (1:4) yaitu 20 ml andromed dicampurkan dengan aquabides sebanyak 80 ml lalu dihomogenkan.

### Pembuatan Larutan Hiposmotik

Larutan yang digunakan adalah 2,7 gram fruktosa yang dilarutkan ke dalam 100 ml aquadest dan 1,47 gram natrium sitrat yang dilarutkan ke dalam 100 ml aquades. Kedua larutan tersebut dicampur sehingga diperoleh larutan hiposmotik dengan volume total 200 ml. Tabung reaksi yang berisi 9,9 ml larutan hiposmotik, kemudian dicampurkan dengan 0,1 ml semen. Campuran tersebut diinkubasikan dalam inkubator dengan temperatur 37°C, selama masing-masing 15 menit, 30 menit dan 45 menit dengan kelembaban jenuh 100%. Setelah diinkubasi sesuai jangka waktu tersebut di atas campuran

tersebut diteteskan pada *object glass*, lalu tutup dengan *cover glass* dan lihat di bawah mikroskop (Olympus CH 20) dengan perbesaran 40×10. Spermatozoa yang normal dan yang telah bereaksi dengan larutan hipoosmotik dihitung pada 10 lapang pandang untuk mendapatkan data HOS *test* pada menit ke-5, menit ke-30 dan menit ke-45. Jumlah spermatozoa yang mengalami pembengkakan dicatat dan dihitung persentasenya terhadap spermatozoa total yang diamati.

Semen dimasukkan ke dalam *straw* (0.25 ml) dengan menggunakan spuit kemudian ujung *straw* dijepit dengan pinset yang telah dipanaskan terlebih dahulu. *Straw* kemudian disimpan pada suhu 5°C dan diekuilibrasikan selama 3 jam, 4 jam dan 5 jam. Kemudian melakukan pemeriksaan motilitas dan abnormalitas.

### Peubah yang Diukur

Peubah yang diamati terdiri atas: motilitas spermatozoa, abnormalitas spermatozoa, dan jumlah membran plasma utuh. Motilitas Spermatozoa dihitung berdasarkan metode Toelihere (1985). Pengamatan motilitas spermatozoa dilakukan dengan meneteskan satu tetes semen pada objek glass kemudian diperiksa di bawah mikroskop dengan pembesaran 10x10 pada gelas objek dengan ditutup dengan gelas penutup. Penilaian persentase motilitas spermatozoa dihitung berdasarkan pergerakan dibandingkan dengan yang tidak bergerak. Jumlah spermatozoa yang bergerak dihitung dan dinyatakan dalam persen dengan menggunakan rumus:

$$\text{Motilitas (\%)} = \frac{\text{Jumlah spermatozoa yang bergerak maju}}{\text{Jumlah spermatozoa yang dihitung}} \times 100$$

Abnormalitas spermatozoa diamati berdasarkan metode Toelihere (1985). Abnormalitas dilakukan dengan membuat preparat ulas yang tipis dengan mencampurkan satu tetes zat pewarna eosin. Selanjutnya sperma dievaluasi di bawah mikroskop dengan pembesaran 40 × 10, kemudian dihitung spermatozoa yang berubah morfologinya akan terlihat seperti ekor menggulung, ekor terputus dan bagian tengah terlipat. Menghitung

spermatozoa normal dan abnormal dengan menggunakan rumus :

$$\text{Abnormalitas (\%)} = \frac{\text{Jumlah spermatozoa abnormal}}{\text{Jumlah spermatozoa yang dihitung}} \times 100$$

Membran plasma utuh spermatozoa diuji berdasarkan metode Jeyendran *et al.* (1984). Spermatozoa yang memiliki membrane plasma utuh ditandai oleh ekor yang melingkar atau menggelembung sedangkan spermatozoa yang memiliki membran plasma rusak ditandai oleh ekor yang lurus. Hal ini disebabkan karena membran plasma yang utuh akan menahan cairan hipoosmotik di dalam sel, sehingga ekornya terlihat melingkar atau bengkok sedangkan spermatozoa dengan ekor yang lurus menunjukkan membran plasma telah mengalami kerusakan. Menghitung spermatozoa yang memiliki membran plasma utuh dengan menggunakan rumus:

$$\text{MPU (\%)} = \frac{\text{Jumlah MPU yang utuh}}{\text{Jumlah spermatozoa yang dihitung}} \times 100$$

### Analisis Data

Data penelitian dianalisis dengan menggunakan dua Rancangan, yaitu Rancangan Acak Lengkap dan Rancangan Acak Lengkap (RAL) factorial (Steel *et al.*, 1991). Perbedaan pengaruh perlakuan diuji dengan uji DMRT.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Karakteristik Semen Segar Kerbau Lumpur

Karakteristik semen segar kerbau lumpur dapat dilihat pada Tabel 1. Rataan volume semen kerbau lumpur dalam penelitian ini adalah 0.9 ml. Hasil ini lebih rendah bila dibandingkan dengan Toelihere (1985) yang menyatakan volume ejakulat kerbau lumpur di Indonesia berkisar antara 0.5 sampai 2.5 ml. Perbedaan volume semen kerbau disebabkan karena beberapa faktor seperti lingkungan, musim, umur ternak, dan pakan. Lingkungan merupakan faktor terpenting dalam mempengaruhi reproduksi dan aktifitas dari kerbau. Musim mempunyai pengaruh terhadap libido dan juga kualitas spermatozoa yang dihasilkan (Andrabi, 2009).

Rataan derajat keasaman (pH) semen kerbau pada penelitian ini dengan 7. Hal ini menunjukkan masih layaknya semen untuk

diproses lebih lanjut. Hal ini sesuai dengan yang dinyatakan oleh Watson (2000) bahwa derajat keasaman pada kerbau adalah 6.8.

Tabel 1. Kualitas semen segar kerbau lumpur.

Karakteristik	Hasil Pengamatan
Nama kerbau	Langkisau
Volume (ml)	0,9
Bau	Spesifik bau semen
pH	7
Warna	Krem
Konsistensi	Sedang
Konsentrasi (juta/ml)	700
Gerakan massa	++
Gerakan individu	2
Motilitas (%)	70%
Abnormalitas (%)	11%
Membran plasma utuh (%)	68%

Keterangan: ++ (baik)

Warna semen kerbau yang didapat dalam penelitian ini adalah krem. Hasil ini tidak jauh berbeda dengan yang dikemukakan oleh Jainudeen dan Hafez (2016) yang menyatakan bahwa, semen kerbau berwarna krem, krem keputihan atau putih susu. Konsistensi semen kerbau pada penelitian ini kental. Hal ini sesuai dengan pendapat Ghodasara *et al.* (2016) yaitu konsistensi semen kerbau adalah agak kental. Konsistensi semen kerbau dipengaruhi oleh banyaknya konsentrasi sperma yang terkandung didalamnya. Konsentrasi yang didapat dalam penelitian ini adalah 700 juta/ml. Hal ini sesuai dengan pendapat Toelihere (1985) bahwa, konsentrasi sperma kerbau di Indonesia berkisar antara 200 sampai 1.000 juta/ml. Gerakan massa pada penelitian ini ++ (baik). Gerakan sperma terlihat gelombang-gelombang yang besar, gelap, banyak, tebal dan aktif. Nilai gerakan massa ini layak untuk diencerkan. Hal ini sesuai dengan yang dinyatakan oleh Singh dan Balhara (2016) bahwa spermatozoa dalam satu kelompok mempunyai kecenderungan untuk bergerak bersama-sama ke satu arah dengan gelombang-gelombang yang tebal dan tipis.

Gerakan individu hasil penelitian ini adalah gerakan melingkar, bergerak progresif dan tidak ada gelombang. Hal ini sejalan dengan pendapat Koonjaenak *et al.* (2007)

yang menyatakan bahwa penilaian kualitas semen yang kedua sangat baik yaitu berayun dan melingkar, kurang dari 50% bergerak progresif dan tidak ada gelombang. Motilitas dari hasil penelitian dengan rata-rata 70%. Hasil penelitian ini lebih tinggi jika dibandingkan dengan motilitas semen kerbau Murrah (66,3%) (Bhakat *et al.*, 2011) dan lebih rendah dari motilitas kerbau lumpur (78,94%) di India (Das *et al.*, 2017). Perbedaan ini diduga disebabkan oleh beberapa faktor antara lain musim, cekaman stres dan bangsa pejantan (Holt, 2000). Abnormalitas dari hasil penelitian semen segar pada kerbau diperoleh 11%. Hasil ini berbeda dengan persentase abnormalitas kerbau rawa di Banjarmasin (12,17%) (Rizal dan Riyadhi, 2017). Membran plasma utuh dari penelitian ini adalah 65%. Hasil penelitian ini lebih rendah dari penelitian kerbau rawa Baluran dan sapi Aceh yang didapatkan membran plasma utuh 79.29% (Kusumaningrum dan Sianturi, 2017); 88.57% (Zulyazaini *et al.*, 2016).

### Kualitas Semen pada Waktu Ekuilibrasi yang Berbeda

Motilitas semen kerbau dengan bahan pengencer andromed dan waktu ekuilibrasi yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 2. Motilitas tertinggi pada waktu ekuilibrasi 4 jam dan 5 jam. Waktu tersebut merupakan waktu

optimal yang dibutuhkan spermatozoa untuk menyesuaikan diri dengan pengencer. Pada tahap ini pengencer yang digunakan akan

menembus ke dalam sel spermatozoa untuk membentuk konsentrasi intra dan ekstraseluler yang seimbang (Manjunath, 2012).

Tabel 2. Rataan motilitas, sperma hidup dan abnormalitas semen kerbau dengan pengencer andromed dan waktu ekuilibrasi yang berbeda.

Perlakuan	Motilitas	Sperma hidup	Abnormalitas
Ekuilibrasi 3 Jam	60.3±9.29 <sup>a</sup>	65.6±8,3 <sup>a</sup>	19.4±5.99 <sup>a</sup>
Ekuilibrasi 4 Jam	62.8±4.65 <sup>b</sup>	66.7±7.3 <sup>b</sup>	11.2±1.30 <sup>b</sup>
Ekuilibrasi 5 Jam	63.7±2.82 <sup>b</sup>	66.8±5.5 <sup>b</sup>	10.5±1.46 <sup>b</sup>

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan sangat nyata (P<0,01)

Tingginya nilai rata-rata motilitas semen kerbau menggunakan bahan pengencer andromed disebabkan karena komposisi kimia bahan pengencer yang tersusun dari zat-zat yang dibutuhkan oleh spermatozoa diantaranya fosfolipid, tris hidrosimetil, aminomethan, asam sitras, fruktosa, gliserol, stectinomisin, lincomisi, gentamisin, kalium dan natrium (Minitube, 2001). Waktu ekuilibrasi 3 jam diduga belum terjadi keseimbangan larutan ekstraseluler dan intraseluler, pengencer belum sepenuhnya masuk ke dalam sel, sehingga pada waktu pembekuan terjadi kerusakan spermatozoa. Di samping adanya pengaruh ekuilibrasi, semen kerbau mempunyai faktor antimotilitas. Bila semen kerbau dibekukan maka faktor ini akan dilepas sehingga menurunkan motilitas spermatozoa kerbau *post thawing* (Tambing *et al.*, 2018).

Nilai motilitas kerbau rawa pada penelitian (63,7%) ini lebih tinggi dari nilai motilitas semen kerbau rawa di Aceh (44,15%) dengan waktu ekuilibrasi terbaik pada waktu 5 jam (Febriani *et al.*, 2014). Penelitian ini juga sejalan dengan Shah *et al.* (2016), (Kumar *et al.*, 2015) dan (Tuli *et al.*, 1981) yang menyarankan waktu ekuilibrasi pada kerbau adalah 4 jam. Namun berbeda dengan Shahverdi *et al.* (2014) yang menyarankan waktu ekuilibrasi 2 jam untuk semen kerbau. Perbedaan kemungkinan disebabkan jenis pengencer yang berbeda, umur ternak dan jenis ternak yang digunakan (Sieme *et al.*, 2016).

Rataan abnormalitas semen kerbau pada waktu ekuilibrasi yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 2. Rataan abnormalitas yang tertinggi terdapat pada waktu ekuilibrasi

selama 3 jam yaitu 19,4%. Hal ini diduga karena waktu ekuilibrasi yang singkat menyebabkan adanya penurunan suhu yang mendadak saat pendinginan yang dapat menyebabkan kerusakan pada bagian-bagian sperma seperti pada ekor (Tambing *et al.*, 2018). Rataan abnormalitas ini berbeda dengan Leite *et al.* (2010) pada kerbau lumpur. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh meningkatnya persentase abnormalitas semen kerbau dipengaruhi oleh faktor pengolahan bahan pengencer dan pendinginan (Ansari *et al.*, 2017). Selain itu pengencer andromed lebih mampu menjaga spermatozoa dari kerusakan akibat suhu rendah dan pengencer andromed juga merupakan buffer yang dapat menekan penurunan kualitas spermatozoa selama proses pendinginan, pembekuan dan *thawing* (Akhter *et al.*, 2010).

Rataan sperma hidup semen kerbau pada ekuilibrasi yang berbeda ini memperlihatkan kualitas yang baik (65-66,8%) (Tabel 2) karena sesuai dengan Standar Nasional Indonesia (SNI) untuk semen kerbau (BSN, 2008). Nilai sperma hidup tertinggi terdapat pada waktu ekuilibrasi 4 jam dan 5 jam (66,7±7,3% dan 68,8±5,5%). Perbedaan waktu ekuilibrasi menghasilkan nilai sperma hidup yang berbeda dan waktu ekuilibrasi yang berbeda menghasilkan penurunan nilai motilitas semen kerbau dalam penelitian ini. Waktu ekuilibrasi 4 jam dan 5 jam merupakan waktu yang cocok untuk spermatozoa beradaptasi dengan pengencer andromed. Hal ini terlihat dari nilai motilitas yang baik pada waktu ekuilibrasi 4 jam dan 5 jam sehingga terjadi keseimbangan ekstraseluler dan intraseluler dalam sel pada

tahap *cold shock* (Garner and Hafez, 2016). Persentase sperma hidup semen kerbau dalam penelitian ini lebih tinggi dari Febriani *et al.* (2014) (46%) dan Rizal dan Riyadhi (2016) (77.67%). Perbedaan ini disebabkan terjadinya kerusakan membran semen yang disebabkan oleh tekanan osmotik sel (Watson, 2000).

### Membran Plasma Utuh pada Waktu Pencampuran yang Berbeda

Persentase membran plasma utuh semen kerbau menggunakan bahan pengencer

andromed dengan waktu ekuilibrasi dan perendaman larutan hipoosmotik yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 3. Lama waktu perendaman larutan hipoosmotik (15, 30 dan 45 menit) tidak berinteraksi dengan lama waktu ekuilibrasi. Rataan membran plasma utuh yang tertinggi adalah pada waktu 45 menit perendaman larutan hipoosmotik yaitu 70.70% diikuti dengan nilai 50.00% pada waktu 30 menit perendaman larutan hipoosmotik dan nilai 22.00% pada waktu 15 menit perendaman larutan hipoosmotik.

Tabel 3. Rataan Membran Plasma Utuh Semen kerbau dengan Waktu Ekuilibrasi dan Perendaman Larutan Hipoosmotik yang Berbeda.

Lama Ekuilibrasi (Jam)	Hipoosmotik (Menit)			Rataan
	15	30	45	
3	39.30±3.11	45.10±4.26	62.20±7.13	48.86 <sup>a</sup>
4	43.60±4.67	42.50±2.24	62.30±5.71	49.46 <sup>a</sup>
5	43.10±5.57	62.40±8.58	67.60±6.73	57.70 <sup>b</sup>
Rataan	42.00 <sup>c</sup>	50.00 <sup>b</sup>	64.70 <sup>a</sup>	

Keterangan: - superskrip yang berbeda pada kolom dan baris yang sama menunjukkan perbedaan sangat nyata (P<0,01).

Waktu optimal pengujian membran plasma utuh ini sama dengan waktu optimal pengujian MPU sapi (Hardyana *et al.*, 2013). Hal ini berarti bahwa perembesan cairan ke dalam sel spermatozoa beragam tergantung dari kondisi spermatozoa tersebut. Pada lama penyimpanan 45 menit akan terjadi peningkatan jumlah spermatozoa yang mengalami pembengkokan ekor. Hal ini menunjukkan adanya kerusakan pada membran plasma yang disebabkan aliran air masuk ke dalam spermatozoa sehingga membran plasma tidak dapat lagi mempertahankan keseimbangan osmotik (Jeyendran *et al.*, 1984). Rataan membran plasma utuh yang tertinggi adalah pada waktu ekuilibrasi 5 jam (57.70%). Tingginya nilai rata-rata membran plasma utuh pada waktu ekuilibrasi 5 jam dengan menggunakan bahan pengencer andromed disebabkan karena di dalam pengencer andromed mengandung lesitin yang cukup tinggi yaitu 6.67 gram per ml yang berasal dari ekstrak kacang kedelai yang berfungsi melindungi membran plasma sel spermatozoa dari pengaruh kejutan dingin selama preservasi semen (Watson, 2000). Hasil

penelitian ini juga sama dengan yang kerbau India (Shah *et al.*, 2016) yang menyarankan waktu ekuilibrasi 4 jam dan berbeda dengan kerbau India lainnya (Sharma *et al.*, 2018) yang menyarankan waktu ekuilibrasi 2 jam. Perbedaan ini disebabkan perbedaan jenis pengencer dan jenis ternak yang digunakan (Garner dan Hafez, 2016). Salah satu faktor utama terjadinya kerusakan pada membran plasma spermatozoa itu tergantung terhadap pengencer yang digunakan dan waktu ekuilibrasi yang dipakai, semakin bagus kandungan pengencer maka keutuhan dari membran plasma spermatozoa akan semakin terjaga (Manjunath, 2012).

### KESIMPULAN

Waktu ekuilibrasi semen kerbau menggunakan pengencer andromed adalah 5 jam dengan nilai motilitas 62,8-63,7%, sperma hidup 66,7-66,8%, dan persentase abnormalitas 10,5-11,2%. Waktu pencampuran dalam larutan hipoosmotik terbaik adalah 45 menit dengan nilai MPU (64,7: 57,7%).

## UCAPAN TERIMA KASIH

Kepada Rektor UIN Suska Riau yang telah membantu pendanaan penelitian ini dan kepada Team Balai Inseminasi Buatan Tuah Sakato, Payakumbuh, yang telah memberi izin sarana dan prasarana penelitian.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akhter, S., Ansari, M.S., Rakha, B.A., Andrabi, S.M.H., Iqbal, S., Ullah, N., 2010. Cryopreservation of buffalo (*Bubalus bubalis*) semen in Bioxcell® extender. *Theriogenology*. 74(6): 951-955.
- Andrabi, S., 2009. Factors Affecting the Quality of Cryopreserved Buffalo (*Bubalus bubalis*) Bull Spermatozoa. *Reprod. Domes. Anim.* 44(3): 552-569.
- Ansari, M., Rakha, B., Akhter, S., 2017. Cryopreservation of Nili-Ravi buffalo (*Bubalus bubalis*) semen in AndroMed® extender; in vitro and in vivo evaluation. *Reprod. Domes. Anim.* 52(6): 992-997.
- Bhakat, M., Mohanty, T.K., Raina, V.S., Gupta, A.K., Khan, H.M., 2011. Frozen semen production performance of Murrah buffalo bulls. *Buffalo Bulletin*. 30(2):157-162
- [SNI] Badan Standardisasi Nasional. 2008. *SNI 4869.2-2008 Semen Beku Kerbau*, Standar Nasional Indonesia. Available at: <https://id.scribd.com/document/345026647/SNI-4869-2-2008-Semen-Beku-Kerbau> (Accessed: 10 February 2019).
- Das, G.C., Das, P.K., Deori, S., Mazumdar, H., Bhattacharyya, B.N., Phookan, A., 2017. Seasonal variation in the characteristics of the swamp buffalo semen of northeast India. *Buffalo Bulletin*. 36(1): 215-219.
- Febriani, G.D., Hamdan., Melia, J., 2014. Pengaruh waktu ekuilibrasi terhadap kualitas semen kerbau lumpur (*Bubalus bubalis*) setelah thawing. *Jurnal Medika Veterinaria*. 8(1): 1-4.
- Garner, D.L., Hafez, E.S.E., 2016. Spermatozoa and Seminal Plasma. In *Reproduction in Farm Animals*. Baltimore, Maryland, USA: Lippincott Williams & Wilkins. Pp. 96-109.
- Ghodasara, S.N., Gajbhiye, P.U., Ahlawat, A.R., Murthy, K.S., 2016. Evaluation of fresh semen quality and predicting the number of frozen semen doses in Jaffrabadi buffalo bull. *Buffalo Bulletin*. 35(1): 66-72
- Goyal, R.L., Tuli, R.K., Georgie, G.C., Chand, D., 1996. Comparison of quality and freezability of water buffalo semen after washing or sephadex filtration. *Theriogenology*. 46(4): 679-686.
- Hardyana, R., Arifiantini, R., Utami, D., 2013. Penentuan Waktu Optimal Pengujian Keutuhan Membran Plasma Sperma Semen Beku Sapi Menggunakan HOS TEST. In *Prosiding Seminar Nasional: Peran reproduksi dalam penyelamatan dan pengembangan plasma nutfah hewan di Indonesia*. Bogor. Pp. 105-109.
- Holt, W., 2000. Basic aspects of frozen storage of semen. *Anim. Reprod. Sci.* 62(1-3): 3-22.
- Jainudeen, M.R., Hafez, E.S.E., 2016. Cattle and Buffalo. In *Reproduction in Farm Animals*. Baltimore, Maryland, USA: Lippincott Williams & Wilkins. Pp. 157-171.
- Jeyendran, R.S., van der Ven, H.H., Perez-Pelaez, M., Crabo, B.G., Zaneveld, L.J.D., 1984. Development of an assay to assess the functional integrity of the human sperm membrane and its relationship to other semen characteristics. *J. Reprod. Fertil.* 70(1): 219-228.
- Koonjaenak, S., Chanatinart, V., Aiumlamai, S., Pinyopumimintr, T., Rodriguez-Martinez, H., 2007. Seasonal variation in semen quality of swamp buffalo bulls (*Bubalus bubalis*) in Thailand. *Asian J. Androl.* 9(1): 92-101.

- Kumar, P., Saini, M., Kumar, D., Balhara, A.K., Yadav, S.P., Singh, P., Yadav, P.S., 2015. Liposome-based semen extender is suitable alternative to egg yolk-based extender for cryopreservation of buffalo (*Bubalus bubalis*) semen. *Anim. Reprod. Sci.* 159: 38-45.
- Kusumaningrum, D.A., Sianturi, R.G., 2017. Pengaruh media pengencer dan plasma semen sapi terhadap kualitas semen beku Kerbau (*Bubalus bubalis*). In Prosiding Seminar Teknologi dan Agribisnis Peternakan V: Teknologi dan Agribisnis Peternakan untuk Mendukung Ketahanan Pangan, Fakultas Peternakan Universitas, Jenderal Soedirman. Pp:368-374.
- Leite, T.G., do Vale Filho, V.R., de Arruda, R.P., de Andrade, A.F.C., Emerick, L.L., Zaffalon, F.G., Martins, J.A.M., de Andrade, V.J., 2010. Effects of extender and equilibration time on post-thaw motility and membrane integrity of cryopreserved Gyr bull semen evaluated by CASA and flow cytometry. *Anim. Reprod. Sci.* 120(1-4): 31-38.
- Manjunath, P., 2012. New insights into the understanding of the mechanism of sperm protection by extender components. *Anim. Reprod.* 9(4): 809-815.
- Minitube. 2001. Certificate Andromed. Minitub Abfull und Labortechnik GmbH & Co KG. Germany. Available at: [https://www.minitube.com/pdf/index/13503-0200\\_Leaflet-AndroMed\\_en\\_171002.pdf](https://www.minitube.com/pdf/index/13503-0200_Leaflet-AndroMed_en_171002.pdf) (Accessed: 14 February 2019).
- Rizal, M., Riyadhi, M., 2017. Fertilitas semen kerbau rawa (*Bubalus bubalis carabanensis*) yang diencerkan dengan pengencer nira aren. *Jurnal Veteriner.* 17(3): 457-467.
- Shah, S.A.H., Andrabi, S.M.H., Qureshi, I.Z., 2016. Effect of equilibration times, freezing, and thawing rates on post-thaw quality of buffalo (*Bubalus bubalis*) bull spermatozoa. *Andrology.* 4(5): 972-976.
- Shahverdi, A., Rastegarnia, A., Rezaei, T., 2014. Effect of Extender and Equilibration Time on Post Thaw Motility and Chromatin Structure of Buffalo Bull (*Bubalus Bubalis*) Spermatozoa. *Cell Journal.* 16(3): 279-288.
- Sharma, M., Bhat, Y., Sharma, N., Singh, A., 2018. Comparative study of seasonal variation in semen characteristics of buffalo bull. *J. Entomol. Zool. Stud.* 6(1):52-109.
- Sieme, H., Oldenhof, H., Wolkers, W.F., 2016. Mode of action of cryoprotectants for sperm preservation. *Anim. Reprod. Sci.* 169: 2-5.
- Singh, I., Balhara, A.K., 2016. New approaches in buffalo artificial insemination programs with special reference to India. *Theriogenology.* 86(1):194-199.
- Steel, R.G.D, Torrie, J.H. dan B Sumantri. 1991. Prinsip dan prosedur statistika : suatu pendekatan biometrik. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
- Tambing, S., Toelihere, M. and Yusuf, T., 2018. Optimization of Artificial Insemination Program in Buffalo. Available at: <http://repository.pertanian.go.id/handle/123456789/4697> (Accessed: 26 February 2019).
- Toelihere, M.R., 1985. Fisiologi reproduksi pada ternak. Angkasa. Available at: [https://books.google.co.id/books/about/Fisiologi\\_reproduksi\\_pada\\_ternak.html?id=-v1wNAAACAAJ&redir\\_esc=y](https://books.google.co.id/books/about/Fisiologi_reproduksi_pada_ternak.html?id=-v1wNAAACAAJ&redir_esc=y) (Accessed: 26 February 2019).
- Tuli, R.K., Singh, M., Matharoo, J.S., 1981. Effect of different equilibration times and extenders on deep freezing of buffalo semen. *Theriogenology.* 16(1): 99-104.
- Watson, P., 2000. The causes of reduced fertility with cryopreserved semen.



*Anim. Reprod. Sci.* 60: 481-492.

Zulyazaini, Z., Dasrul, Wahyuni, S., Akmal,  
M., Abdullah, M.A.N., 2016.  
Karakteristik semen dan komposisi

kimia plasma seminalis sapi Aceh yang  
dipelihara di BIBD Saree Aceh Besar.  
*Jurnal Agripet.* 16(2):121-130.