

LEMBAR PENGESAHAN

Yang bertanda tangan dibawah ini menyatakan bahwa :

NAMA : NOVAL GOMGOM TUA SIALLAGAN
NPM : 23400103
Program Studi : PETERNAKAN
Judul Penelitian : PENGARUH PENAMBAHAN GENTAMISIN
DALAM PENGECERAN SEMEN TERHADAP
KUALITAS SPERMATOZOA BABI DUROC
Tanggal Ujian : 27 Maret 2024

Lulus ujian skripsi dan skripsi telah diperiksa, diperbaiki, dan disetujui oleh dosen pembimbing serta terdaftar di Fakultas Peternakan Universitas IIKBP Nommensen.

Menyetujui :

Komisi Pembimbing


Ir. Heri Saragih, M.S.
Pembimbing I


Ir. Partogi M.H. Hutapea, MP.
Pembimbing II

Mengetahui:

Dekan

Ir. Tunggul F. Sitorus, MP

Ketua Program Studi

Ir. Magdalena Siregar, MP

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Ternak babi merupakan ternak penghasil daging yang cukup produktif dan banyak dikembangkan oleh peternak dibandingkan dengan ternak lain. Pada saat ini peternakan babi diusahakan secara intensif guna memenuhi kebutuhan daging yang semakin meningkat dan sebagai pemenuhan gizi masyarakat serta berbagai kepentingan lain termasuk sebagai komoditi ekspor dan sumber devisa. Peningkatan populasi ternak dapat dilakukan dengan peningkatan kelahiran anak melalui proses reproduksi atau perkawinan ternak jantan dan betina. Perkawinan dapat dilakukan dengan perkawinan alamiah atau dengan inseminasi buatan dan bioteknologi reproduksi lainnya.

Semen yang digunakan untuk IB diambil dari ejakulasi babi jantan yang unggul. Dalam penerapan inseminasi buatan faktor yang berpengaruh untuk keberhasilannya adalah kualitas dari semen babi itu sendiri, akan tetapi proses penyiapan semen untuk kawin suntik ini sangat beresiko terhadap infeksi saat proses penampungan hingga inseminasi semen babi ke saluran reproduksi betina. Kontaminasi dapat terjadi sebagai akibat dari infeksi saluran reproduksi jantan, tetapi juga melalui pengumpulan semen dan processing untuk mendapatkan semen (Silva *et al.* 2006). Untuk meminimalkan efek samping tersebut, antibiotik ditambahkan dalam bahan pengencer untuk mencegah pertumbuhan bakteri (Salamon and Maxwell, 2000). Dalam cairan semen babi, jenis bakteri yang sering terjadi adalah *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, dan *Proteus* (Althouse dan Lu, 2005).

Kualitas sperma tidak hanya dipengaruhi oleh bibit dari pejantan tetapi juga dipengaruhi oleh pengenceran semen, Oleh karena itu perlu dilakukan upaya pengenceran agar kualitas semen dapat dipertahankan dalam waktu yang relatif lama. Pengenceran merupakan cara yang dapat dilakukan untuk mempertahankan kualitas dan volume sperma selama penyimpanan. 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*). Pengenceran dapat memperbanyak volume semen sehingga memungkinkan untuk melakukan IB terhadap betina dalam jumlah lebih banyak dari satu ejakulasi. Bahan pengencer yang digunakan harus mengandung sumber nutrisi, buffer, komponen isotonis, bahan anti *cold shock* dan antibiotik yang dapat melindungi spermatozoa selama proses pengolahan dan penyimpanan (Priastomo *et al.*2009). Oleh karena itu, penting digunakan bahan pengencer yang dapat mempertahankan kualitas spermatozoa. Menurut Gadea (2003) bahan pengencer komersial yang dapat digunakan sebagai pengencer semen babi adalah Beltsville Thawing Solution (BTS) dan Mulberry III (MIII). Karbohidrat, terutama fruktosa, paling banyak digunakan sebagai sumber nutrisi karena lebih mudah dimanfaatkan oleh spermatozoa dan sebagai pelindung terhadap penyimpanan semen, sementara bahan pengencer Beltsville Thawing Solution (BTS) mengandung glukosa sebagai unsur utama karbohidrat (Dube *et al.* 2004).

Penambahan antibiotik pada bahan pengencer semen ternak peliharaan telah umum dilakukan. Antibiotik berfungsi sebagai penghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri yang terdapat di dalam semen beku (Rabusin, 2018). Sebagai contoh Penisilin dan Streptomisin adalah antibiotik yang biasa digunakan untuk pembuatan bahan pengencer semen (Udin, 2012). Penisilin aktif terhadap bakteri gram positif (Herawati dan Irawati, 2014), sedangkan streptomisin aktif terhadap bakteri gram negatif (Nattadiputra dan Munaf, 2009). Gentamisin memiliki keunggulan dibanding antibiotik yang lain, yaitu aktif terhadap bakteri gram positif dan negatif (Herawati dan Irawati, 2014). Penambahan gentamisin pada bahan pengencer semen beku dapat di lakukan sebanyak 500 µg/ml (Hasan *et al.* 2000).

Kepala akrosom spermatozoa dapat rusak karna terjadinya cold shock dan adanya bakteri dalam semen cair. Untuk menghambat perkembangan bakteri pada semen babi dapat dilakukan dengan penambahan antibiotik seperti gentamisin, Antibiotik gentamisin aktif terhadap bakteri terutama pada bakteri gram negatif dan positif (Nattadiputra dan Munaf, 2009). Gentamisin merupakan antibiotik golongan aminoglikosida yang digunakan untuk mengobati berbagai infeksi bakteri yang sebagian besar bakteri Gram-negatif seperti *Pseudomonas*, *Proteus*,

Escherichia coli, *Klebsiella pneumonia*, *Enterobacter aerogenes*, dan *Serratia*. Gentamisin juga dapat digunakan untuk mengobati infeksi *Staphylococcus* Gram-positif.

Mencermati akan pikiran-pikiran tersebut, maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian mengenai “Pengaruh Penambahan Gentamisin Dalam Semen Terhadap Kualitas Spermatozoa Babi Duroc”.

1.2. Identifikasi Masalah

Adapun identifikasi masalah yang akan diteliti adalah sebagai berikut :

1. Berapa besar pengaruh penambahan gentamisin dalam semen terhadap kualitas spermatozoa pada babi?
2. Berapa dosis terbaik penambahan gentamisin dalam semen terhadap kualitas spermatozoa pada babi?

1.3. Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui berapa besar pengaruh penambahan gentamisin dalam semen terhadap kualitas spermatozoa pada babi.
2. Untuk mengetahui berapa dosis terbaik penambahan gentamisin dalam semen terhadap kualitas spermatozoa pada babi

1.4. Manfaat Penelitian

Adapun manfaat penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Sebagai sumber informasi bagi mahasiswa dan peternak tentang penambahan gentamisin dalam pengencer terhadap kualitas spermatozoa babi.
2. Dapat memanfaatkan bahan yang murah dan mudah di dapat untuk mempertahankan kualitas spermatozoa terhadap babi.

1.5. Kerangka Pemikiran

Semen babi memiliki sifat *voluminous* yakni volume tinggi yaitu 150 – 200 ml dan konsentrasi rendah yaitu $200 - 300 \times 10^6$ sel/ml (Garner dan Hafez 2000). Penggunaan bahan pengencer BTS (Beltsville Thawing Solution) adalah sebagai sumber energi, *buffer*, melindungi spermatozoa terhadap *cold shock*, dan mencegah perubahan pH serta tekanan osmotik dalam semen cair, sehingga dapat

mempertahankan motilitas, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa selama pengolahan dan penyimpanan.

Perlindungan terhadap spermatozoa selain tergantung dari bahan pengencer yang digunakan, juga tergantung dari temperatur penyimpanan yang berkisar 15-20 °C. Perubahan temperatur dapat berpengaruh terhadap komposisi membran plasma spermatozoa, terutama pada struktur *phospholipid* membran plasma dari Fase cair menjadi fase gel yang dapat menyebabkan kerusakan membrane plasma sel secara permanen. Hal tersebut dapat menurunkan kualitas spermatozoa selama penyimpanan termasuk motilitas spermatozoa, viabilitas spermatozoa dan abnormalitas spermatozoa.

Studi pertama tentang efek antibiotik pada semen babi dilakukan pada awal 1980-an. Sone *et al.* (1982) membandingkan kemampuan Sembilan antibiotik untuk mengendalikan pertumbuhan sebelas genera bakteri yang biasa ada dalam semen babi dan menemukan bahwa dibecakin, amikasin dan gentamisin adalah yang paling efektif dengan konsentrasi penghambatan minimum terendah Sone *et al.* (1982). Karya – karya lain bertujuan untuk menjelaskan bagaimana keberadaan antibiotik dalam pengencer mempengaruhi kualitas dan kemampuan pembuahan sperma babi. Bryla dan Trzcinska (2015) menggabungkan gentamisin, salah satu antibiotik paling umum yang digunakan dalam semen babi, dengan yang lain seperti florfenikol dan polimuksin B, untuk jangka waktu 10 hari dan menemukan bahwa kombinasi 100 µg/ml gentamisin dan 100 µg/ml florfenicol adalah yang memberikan hasil terbaik.

Kontaminasi bakteri menghasilkan perubahan yang berbeda pada integritas dan fungsi sperma, termasuk penurunan motilitas dan viabilitas sperma, aglutinasi sperma, eksotisis akrosom degenerative, dan perubahan pH (Bussalleu *et al.* 2016). Akibatnya, ada pengurangan waktu penyimpanan dosis semen pada 15-17 °C. Oleh karena itu, antibiotik ditambahkan untuk menghindari pertumbuhan bakteri dalam ekstender, karena nutrisi seperti glukosa dan suhu penyimpanan (15-18 °C) semen yang di dinginkan memungkinkan perkembangan bakteri gram negative, seperti *Echerichia coli*, *salmonella sp* dan *Pseudomonas sp*. Total bakteri maksimal yang terdapat pada beku agar dapat digunakan pada program inseminasi buatan menurut International Committee For Animal Recording

(ICAR) adalah 5×10^3 CFU/ml (Rabusin, 2018). Beberapa bakteri yang umum ditemukan pada semen babi adalah *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, dan *Proteus* (Althouse dan Lu 2005).

Bakteri yang terkandung dalam semen dapat dikontrol dan dihambat pertumbuhannya dengan pemberian antibiotik (Gloria *et al.*, 2014). Banyak antibiotik yang telah diteliti baik dosis, metode pemberian, dan interaksinya dengan pengencer. Kombinasi antibiotik yang lebih efisien telah dikembangkan oleh Shin *et al.*, (1988) yaitu gentamisin, tilosin, linkomisin, dan spektinomisin (GTLS) yang telah digunakan secara luas di Amerika dan Eropa (Morrell dan Wallgren, 2014).

Antibiotik ditambahkan pada pengencer bertujuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri Gram negative seperti *Escherichia coli*, *Salmonella* dan *Pseudomonas*. Kontaminasi bakteri dapat menyebabkan beberapa perubahan pada semen seperti penurunan motilitas, aglutinasi spermatozoa atau clumping peningkatan proporsi perubahan akrosom seperti terjadinya penurunan pH sampai kondisi asam (pH 5,7-6,4). Dengan penambahan Penicillin dan Streptomycin 1 g/l secara kombinasi serta aminoglycoside seperti gentamicin, neomycin dan kanamycin pada konsentrasi 200 mg/l dapat melindungi semen dari kontaminasi tersebut (Gadea, 2003).

Hasil penelitian dari Retfilujeng (2011) penggunaan gentamisin dalam pengencer NaCl fisiologis 0,9% pada sperma ayam pelung dengan level yang berbeda (L1) 2,5 μ g/ml, (L2) 5 μ g/ml, (L3) 7,5 μ g/ml kemudian disimpan pada suhu 5°C selama 24 jam. Kualitas spermatozoa diamati pada jam ke-0, 3, 6, 9 dan 24. Hasil penelitian menunjukkan perlakuan level gentamisin berpengaruh nyata ($P \leq 0,05$) terhadap motilitas spermatozoa, tetapi tidak berpengaruh nyata pada pH sperma, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa. Kualitas sperma terbaik selama penyimpanan dihasilkan oleh penambahan gentamisin sebanyak 5 μ g/ml. Hasil penelitian Sitepu dan Marisa (2020) menyatakan bahwa penambahan gentamisin sebanyak 500 μ g dan 1 % minyak atsiri pada bahan pengencer semen beku sapi simental memiliki nilai persentase abnormalitas terbaik atau berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap abnormalitas spermatozoa.

Gentamisin merupakan aminoglikosida yang diisolasi dari *Micromonospora purpurea*. Zat ini aktif terhadap bakteri gram- negatif dan bakteri gram-positif serta banyak sifatnya yang menyerupai aminoglikosida lainnya (Katzung, 2004). Penambahan gentamisin pada bahan pengencer semen beku dapat dilakukan sebanyak 500 µg/ml Hasan *et al.* (2000).

Dengan penambahan antibiotik pada spermatozoa diharapkan mampu meningkatkan motilitas, viabilitas dan menurunkan tingkat abnormalitas spermatozoa babi dalam waktu yang lebih lama untuk tetap memenuhi syarat dalam aplikasi IB sehingga meningkatkan fertilitas spermatozoa babi Foeh dan Gaina (2017).

1.6. Hipotesa Penelitian

Penambahan gentamisin dalam bahan pengencer semen babi akan mempertahankan kualitas spermatozoa Babi.

1.7. Defenisi Operasional

1. Semen adalah cairan seminal yang disekresi oleh kelenjar aksesori yang bercampur dengan sperma dihasilkan dalam sekali ejakulasi.
2. Spermatozoa adalah sel-sel kelamin jantan yang dihasilkan oleh testis.
3. Konsentrasi spermatozoa adalah kandungan sperma dalam setiap milliliter sperma yang merupakan salah satu parameter kualitas semen yang sangat berguna untuk menentukan jumlah betina yang dapat diinseminasikan menggunakan semen tersebut.
4. Viabilitas spermatozoa adalah daya hidup spermatozoa. Pemeriksaan viabilitas spermatozoa dapat dapat dijadikan indikator integritas struktur membrane spermatozoa.
5. Motilitas spermatozoa adalah gerak maju kedepan dari spermatozoa secara progresif.
6. Abnormalitas spermatozoa adalah keadaan morfologi dari spermatozoa yang tidak normal.
7. Pengencer yang digunakan yaitu BTS (Beltsville Thawing Solution)
8. Antibiotik adalah zat yang dihasilkan oleh suatu mikroba, terutama fungi, yang dapat menghambat atau dapat membasmi mikroba jenis lain.

9. Gentamisin merupakan antibiotik tipe aminoglikosida yang bekerja dengan mengganggu kemampuan bakteri untuk melakukan sintesis protein, sehingga dapat membunuh bakteri.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Babi

Babi merupakan sejenis hewan unggulan yang bermoncong panjang dan berhidung lempur. Babi merupakan hewan yang aslinya berasal dari Eurasia, salah satu kerabat babi adalah kuda nil. Babi termasuk kedalam Filum: *Chordata*, Sub Filum: *Vertebrata* (bertulang belakang), Marga: *Gnatostomata* (mempunyai rahang), Kelas: *Mamalia* (menyusui), Ordo: *Artiodactyla* (berjari/berkuku genap), Genus: *Sus*, Species: *Sus scrofa*, *Sus vittatus/Sus strozzli*, *Sus cristatus*, *Sus leucomystax*, *Sus celebensis*, *Sus verrucosus*, *Sus barbatus*. Babi tergolong dalam jenis hewan *Omnivora*, yang berarti pemakan segala. Babi merupakan hewan ternak yang banyak ditenakkan oleh masyarakat di Indonesia. Secara umum ternak babi memiliki peranan manfaat yang beragam dalam kehidupan manusia, seperti sebagai sarana untuk upacara adat, memenuhi kebutuhan daging masyarakat dan meningkatkan ekonomi masyarakat Indonesia (Toelihere, 1993).

Sampai saat ini ada banyak jenis ternak babi yang telah dikembangkan di Eropa dan Amerika, namun yang paling banyak ditenakkan adalah jenis Yorkshire, Duroc, Hampshire, Chester White, Spot, Landrace, Bekshire, Poland China, PIC USA dan Delkalb (Agus, 2008). Dari berbagai breed yang ada dikategorikan menjadi tiga tipe yaitu *Lard*, *Bacon* dan *Meat*, pembagian kelompok ini berdasar pada permintaan konsumen, karakter dari *breed* tersebut dan kemampuan *breeder* untuk mengembangkan breed yang ada (Leboeuf *et al.*, 2000)

Jenis bangsa babi peliharaan yang umum dikonsumsi di Indonesia adalah babi Landrace, babi Duroc, dan babi hasil persilangan lainnya (Sinaga, 2008). Babi Landrace merupakan babi yang berasal dari Denmark, termasuk babi *bacon* yang berkualitas tinggi. Babi Landrace merupakan hasil persilangan antara pejantan Large White dengan induk lokal. Babi *Landrace* dipakai secara luas untuk memperbaiki mutu genetik ternak babi di daerah tropis terutama di Asia Tenggara (Surya, 2012). Babi Landrace sangat populer sehingga dikembangkan juga di Amerika Serikat, Australia, dan Indonesia, yakni American Landrace dan Australian Landrace. Babi ini berwarna putih, terkenal babi bertubuh panjang

(Sonjaya, 2005). Babi jantan sudah matang kelamin pada umur 5-6 bulan, namun babi jantan yang dipergunakan sebagai pemacek/pejantan haruslah yang sudah berumur 8-10 bulan.

Secara umum alat reproduksi jantan adalah untuk memproduksi sel jantan, yaitu spermatozoa atau biasa disingkat sperma. Organ reproduksi babi jantan terdiri dari sepasang testis, tubulus semiferus, rete testes, saluran efferens, epididymis, vasdeferens, kelenjar prostat, kelenjar *cowper's*, uretra dan penis. Testes babi sangat besar tapi relatif lebih lunak, dan terletak horizontal di dalam scrotum. Scrotum babi terletak tepat dibawah anus dan tidak begitu jelas seperti yang terlihat pada mamalia lainnya, Testes berbentuk lonjong, panjang 10 sampai 15 cm, diameter 5-9cm, berat (*duatestes*) antara 500 sampai 800 gram, rata-rata 600 gram (Toelihere, 1993).

2.3. Semen

Semen adalah sekresi kelamin jantan yang secara normal diejakulasikan ke dalam saluran kelamin betina sewaktu kopulasi, tetapi dapat pula ditampung dengan berbagai cara untuk keperluan inseminasi buatan. Semen mengandung banyak spermatozoa yang berada dalam medium cair, yaitu plasma-plasma (Toelihere, 1993). Tiap spermatozoa terdiri dari bagian kepala dimanater kumpul bahan-bahan genetik dan bagian ekor yang menyebabkan spermatozoa dapat bergerak maju sendiri. Sel spermatozoa mempunyai fungsi dalam pembuahan ovum hewan betina (Feradis, 2010).

Spermatozoa dibentuk di dalam testes melalui proses yang disebut spermatogenesis, tetapi mengalami pematangan lebih lanjut di dalam epididymis dimana sperma disimpan sampai ejakulasi. Kapasitas produksi sperma testes sudah ditentukan terlebih dahulu oleh hereditas dan sperma hidup hewan tersebut dikendalikan oleh kelenjar adenohipophysa dan faktor-faktor lain yang mempengaruhi testes secara tidak langsung melalui kelenjar hypophysa atau secara langsung terhadap testes itu sendiri (Feradis, 2010). Permukaan spermatozoa dibungkus oleh suatu membran lipoprotein. Apabila sel tersebut mati, permeabilitas membrannya meninggi, terutama di daerah pangkal kepala, dan hal ini merupakan dasar pewarnaan semen yang membedakan spermatozoa hidup dan yang mati. Zat warna yang umum dipakai adalah eosin atau merah

kongo terhadap latar belakang hitam dari negrosin. Spermatozoa yang hidup tidak akan menyerap zat warna sehingga tetap bening sedangkan spermatozoa yang mati akan menyerap warna sehingga akan berwarna merah (Feradis, 2010).

Kualitas semen selama penyimpanan sebelum dilakukan IB sangat penting diketahui karena dapat memperkirakan sejauh mana daya hidup dan fertilitas spermatozoa di dalam saluran reproduksi betina. Selain itu dapat digunakan pula sebagai acuan untuk inseminator dalam hal penyediaan semen yang baik untuk diinseminasikan. Semen babi hanya dapat diambil dua kali sehari dengan tempo beberapa hari, apabila diambil lebih dari itu maka kualitas sperma dalam semen akan menurun. Semen babi hanya dapat disimpan dengan tetap mempertahankan mutunya pada kisaran temperatur 15- 20°C. Perubahan temperatur akan berpengaruh terhadap struktur *fosfolipida* pada membran plasma spermatozoa. Membrane spermatozoa babi memiliki persentase *fosfatidiletanolamin* dan *spingomielin* yang rendah, yakni masing-masing adalah 24% dan 14%. Hal ini yang menyebabkan membran plasma spermatozoa babi sangat sulit stabil pada keadaan temperatur yang rendah (Sumardani *et al*, 2008).

Penggunaan semen babi yang cair untuk periode waktu yang lama memerlukan perlakuan ekstra yaitu dengan penambahan bahan pengencer yang mengandung sumber nutrisi, buffer, *cold shock*, dan antibiotik, hal ini dimaksudkan untuk melindungi spermatozoa selama proses pengolahan dan penyimpanan. Karbohidrat, terutama fruktosa, paling banyak digunakan sebagai sumber nutrisi karena lebih mudah dimanfaatkan oleh spermatozoa dan digunakan sebagai pelindung terhadap *cold shock* (Toelihere, 1993).

Tabel 1. Karakteristik Semen Babi.

Parameter	Jumlah
Volume Semen (ml)	150-400
Konsentrasi Spermatozoa (10^6 sel/ml)	150-300
Motilitas Spermatozoa (%)	50-80
Morfologi Spermatozoa Normal (%)	70-90
Protein (%)	3.7
Ph	7.3-7.8

Sumber : Garner dan Hafez (2000)

2.4. Faktor Yang Mempengaruhi Kualitas Semen

Untuk keberhasilan perkawinan atau inseminasi buatan, semen harus diproduksi dalam jumlah dan kualitas yang baik. Menurut Yendraliza (2008) bahwa semen yang berkualitas dan berkuantitas di pengaruhi oleh:

1. Makanan

Pemberian pakan pada ternak haruslah pakan yang memiliki kualitas dan kuantitas baik. Karena makanan selain untuk pertumbuhan badannya makanan juga sangat di butuhkan untuk perkembangan reproduksi. Pada tingkat makananyang rendah sampai terjadi kekurangan nutrisi akan menghambat pertumbuhan pejantan muda dan penurunan berat badan ternak, maka terlihat gejala stress, penurunan jumlah spermatozoa per ejakulat dan kehilangan libido. Pada ternak tingkatan makanan yang rendah menyebabkan kelambatan masa pubertas (Sumardani, 2007).

2. Konstituen Makanan

Pada kondisi manajemen yang biasa, kemungkinan defisiensi kualitas dan kuantitas protein yang di berikan kepada pejantan sangat sedikit. Jika proteinyang di dalam ransum kurang dari 2%, terjadi pengurangan konsumsi makanan, penurunan berat badan, kelemahan, dan penurunan libido dan penurunan produksi spermatozoa pada ternak. Oleh sebab itu kebutuhan protein, vitamin dan mineral padaternak jantan haruslah terpenuhi (Toelihere, 1993)..

Adapun faktor-faktor yang dapat memengaruhi volume, motilitas dan jumlah produksi semen cair pada babi pejantan antara lain, pakan, suhu dan musim, frekuensi ejakulasi, penyakit, libido dan faktor fisik, pengangkutan ternak, umur, dan gerak badan. Tingkat pemberian dan mutu pakan yang rendah, dapat menghambat pertumbuhan pejantan, penurunan jumlah spermatozoa per ejakulat, dan penurunan libido. Tingkat pemberian pakan yang berlebihan/tinggi, dapat menyebabkan infertilitas (Sumardani, 2007).

3. Suhu dan Musim

Perubahan suhu yang tidak menentu dapat mempengaruhi reproduksi ternak jantan. Musim juga mempengaruhi kualitas dan kuantita semen. Peningkatan suhu testes karena *cryptorchidismus* dan stress yang tersembunyi, *herniainguinalis*, penyakit-penyakit kulit atau luka lokal, demam yang tak kunjung mereda,

penyakit menular dan peninggian suhu udara karena kelembaban yang tinggi dapat menyebabkan kegagalan pembentukan dan penurunan produksi spermatozoa (Feradis, 2010).

Maka dari itu babi pejantan harus diberi pakan yang layak dan cukup baik kualitas maupun kuantitasnya. Suhu lingkungan yang terlampau dingin atau terlampau panas dapat memengaruhi reproduksi hewan jantan, dan menghambat produksi spermatozoa oleh testis. Hewan pejantan yang terlampau sering dan kontinyu ditugasi mengawini betina atau ditampung semennya dapat menurunkan jumlah semen dan konsentrasi spermatozoa (Sumardani, 2007).

4. Frekuensi Ejakulasi

Pemakaian pejantan dalam satu satuan waktu perlu di batasi mengingathasil-hasil pengamatan bahwa frekuensi ejakulasi yang terlampau sering dalam satuan waktu yang relatif pendek cenderung untuk menurunkan libido, volume semen dan jumlah spermatozoa per-ejakulasi. Ternak jantan yang belum dewasa harus dibatasi pemakaiannya karena penurunan kualitas semen yang di dihasilkan dan dapat terjadi penurunan libido (Feradis, 2010).

Pejantan yang secara genetik mempunyai libido rendah cenderung mengembangkan sifat penolakan untuk mengawini babi betina. Menurunnya keinginan untuk kawin akan memengaruhi volume semen yang dihasilkan dan konsentrasi spermatozoa motil per ejakulat. Walaupun perkawinan yang fertil dapat terjadi pada waktu babi pubertas dan testis babi akan selalu berkembang dan menghasilkan lebih banyak semen, akan tetapi perlu dilakukan pembatasan bagi pejantan muda untuk mengawini babi betina berahi (Sumardani,2007).

5. Libido dan Faktor Fisik

Kualitas dan kuantitas semen di pengaruhi oleh libido. Faktor yang mempengaruhi libido dapat berasal dari luar atau dari dalam tubuh ternak. Faktor dari dalam termasuk faktor fisiologik terutama adalah fisik yang mempengaruhi kopulasi normal. Sedangkan yang menjadi faktor lain adalah penyakit dan benih penyakit, pengangkutan dalam perjalanan, umur, herediter dan lingkungan dan gerak badan (Yendraliza, 2008).

Hewan jantan yang berumur lebih tua mempunyai efisiensi reproduksi yang lebih tinggi dari pada pejantan muda, sehingga gerak badan (exercise) penting

untuk mempertahankan tonus otot-otot tubuh, terutama kaki dan kesehatan pada umumnya. Hal ini karena organ reproduksi pada pejantan kelompok umur dewasa khususnya pada organ testis serta kelenjar-kelenjar kelamin pelengkap/aksesori seperti kelenjar vesicularis, prostat, dan kelenjar Cowper, berada pada fase produktivitas tinggi sehingga jumlah sel spermatozoa dan produksi kelenjar kelamin pelengkap yang dihasilkan dalam satu kali ejakulat lebih tinggi daripada pejantan dalam kelompok umur tua (Sumardani, 2007).

2.5 Bahan Pengencer Semen

Pengencer merupakan media spermatozoa untuk hidup dan mencukupi kebutuhan nutrisi, serta untuk menjaga daya fertilitas spermatozoa tersebut. Dalam melakukan pengenceran semen, ada beberapa hal yang perlu diperhatikan yaitu penyimpanan bahan, pencampuran sampai saat akan digunakan atau dilakukan pengamatan. Spermatozoa tidak dapat bertahan hidup dalam jangka waktu yang lama, kecuali apabila ditambahkan berbagai unsur pendukung dalam semen (Sufyanhadi, 2012). Secara garis besar pengencer berfungsi untuk:

- Menyediakan zat-zat makanan sebagai sumber energi bagi spermatozoa,
- Melindungi spermatozoa dari *cold shock*,
- Menyediakan suatu penyanggah untuk mencegah perubahan pH akibat pembentukan asam laktat dari hasil metabolisme spermatozoa,
- Mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit yang sesuai, Mengandung unsur-unsur yang sifat fisik dan kimianya hampir sama dengan semen dan tidak mengandung zat yang bersifat toksik bagi spermatozoa dan saluran kelamin betina,
- Mencegah pertumbuhan mikroorganisme,
- Memperbanyak volume semen.

Bahan pengencer semen babi telah banyak diteliti dan dikembangkan untuk mendukung program IB di antaranya adalah susu krim, tris, maupun pengencer laktosa, karbohidrat dan kuning telur. Bahan pengencer semen babi berdasarkan daya simpannya, diklasifikasikan menjadi tiga tipe yaitu berdaya pendek (*short term extender*) 1-3 hari, berdaya simpan sedang (*Medium term*

extender) dengan daya tahan 5-7 hari (Johnson *et al.* 2006), serta berdaya simpan panjang (*long term extender*) dengan daya tahan 7-12 hari (Zhou *et al.* 2004).

1. BTS (*Beltsville Thawing Solution*)

Beltsville thawing solution merupakan salah satu pengencer yang telah diperjual belikan secara global yang diproduksi dan digunakan untuk pengencer semen babi. Penggunaan BTS sebagai bahan pengencer sangat bermanfaat dalam preservasi spermatozoa babi. Pengencer BTS merupakan pengencer tipe shortterm (berdaya simpan pendek). BTS mengandung glukosa sebagai unsur utama karbohidrat (Dube *et al.* 2004). Glukosa ini dimanfaatkan oleh spermatozoa sebagai sumber energi baik dalam kondisi anaerob yaitu pada saat penyimpanan, maupun kondisi aerob yaitu pada saluran reproduksi betina. Pengencer ini juga mudah dimetabolisme oleh spermatozoa. Glukosa diubah terlebih dahulu menjadi glukosa 6-phosphat kemudian menjadi fruktosa 6-phosphat dan akhirnya menjadi fruktosa bis-phosphat untuk menghasilkan energi bagi spermatozoa, BTS saat ini paling banyak digunakan oleh peternak yang melakukan inseminasi buatan (IB) karena harganya yang terjangkau dan hasil yang memuaskan (Dube *et al.* 2004).

Penelitian oleh Kommissrud *et al.* (2002) menggunakan pengencer BTS selama enam jam penyimpanan pada suhu 16-18 °C menunjukkan persentase motilitas spermatozoa 79,8%. Hasil penelitian Kadirvel *et al.* (2005) melaporkan bahwa pengencer BTS dapat digunakan sebagai pengencer semen babi dengan daya simpan 4 hari pada suhu 17 °C dan Modena, dengan motilitas spermatozoa pada pengamatan hari ke empat mencapai 64,43% dengan pengencer BTS dan 61,87% dengan pengencer Modena.

Salah satu contoh jenis pengencer semen babi yaitu *Beltsville Thawing Solution* (BTS). BTS merupakan pengencer yang diproduksi oleh minutube dalam bentuk kristal dengan berat 50 gram dalam satu sasetnya. Cara menggunakannya yaitu dengan melarutkan 50 gram BTS di larutkan dengan 1 liter aquabides dan di homogenkan dalam suhu 30 °C (Johnson *et al.* 2006).

Tabel 2. Bahan kimia yang terkandung dalam BTS (*Beltsville Thawing Solution*).

Bahan Kimia(gram/100ml)	Konsentrasi
1. Glukosa	3,700
2. EDTA	0,125
3. NatriumSitat	0,600
4. NatriumBikarbonat	0,125
5. PotassiumKlorida	0,075
6. Penisilin (IU): Streptomisin(mg)	100000:100
7. Aquabides(ml)	100

Sumber: (Sumardani et al, 2008)

EDTA berfungsi sebagai penahan aktivitas kalsium yang merupakan media dalam proses kapasitas spermatozoa dan reaksi akrosom. Potassium berfungsi untuk melindungi pompa sodium potassium dan mencegah terjadinya pergeseran pompapotassium intraseluler yang dapat menyebabkan gangguan fungsi transportasi ion serta metabolisme sel spermatozoa. Glukosa merupakan sumber energi yang paling umum digunakan dalam pengencer semen, meskipun berbagai derivat gula yang lain telah di uji misalnya *fruktosa*, *ribose* atau *trehalosa* akan tetapi hasilnya tidak begitu bagus (Sumardani *et al*, 2008)

2. MIII (Medium Term Extender)

MIII merupakan bahan pengencer berdaya simpan sedang/medium term dengan daya tahan 5-7 hari (Zhou *et al.*, 2004). Penggunaan MIII sebagai bahan pengencer karena mengandung bahan bersifat buffer, berfungsi sebagai pengatur tekanan osmotik dan juga menetralkan asam laktat yang dihasilkan dari sisa metabolisme spermatozoa. Pengencer MIII juga mengandung BSA dan glisin. BSA sebagai penyangga (buffer) berperan untuk mencegah efek membahayakan terhadap perubahan pH akibat terbentuknya asam laktat, tekanan osmotik, menghambat pertumbuhan bakteri, dan melindungi sel spermatozoa selama proses pembekuan. Sedangkan glisin berperan sebagai sumber nutrisi dan protein bagi spermatozoa selama penyimpanan dan sebagai bahan yang mampu melindungi membran spermatozoa dari pengaruh cold shock.

3. Andromed

Andromed merupakan bahan pengencer instan berupa cairan yang dapat digunakan dalam proses pembekuan semen. Pengencer Andromed mengandung gliserol yang berfungsi untuk menghasilkan energi dan membentuk fruktosa, sehingga menunjukkan spermatozoa yang optimum. Andromed merupakan pengencer komersial dasar bebas protein hewani (Herdis, Surachman, Yulnawati, Rizal, dan Maheswari, 2008). Bahan pengencer instant ini berupa cairan yang tersusun atas aquabidest, fruktosa, gliserol, asam sitrat, buffer, pHosfolipid, (Susilawati, 2011). Andromed adalah pengencer yang dapat memberikan pengaruh terbaik terhadap persentase motilitas dan persentase hidup spermatozoa dibandingkan dengan susu skim (Kuswanto dkk, 2007). Pengencer andromed mampu melindungi membran akrosom spermatozoa hasil seksing diduga karena adanya kandungan lesitin kedelai yang mampu melindungi membran spermatozoa (Hammadeh et al., 2001). Pembuatan pengencer andromed adalah sebagai berikut : andromed dimasukkan dalam gelas ukur 50 mL. Ditambahkan aquabidest dengan perbandingan antara andromed dan aquabidest = 1:4, kemudian dihomogenkan. Dimasukkan dalam penangas air dengan suhu 38°C. Pengencer siap untuk digunakan sebagai pengencer semen (Susilawati, 2011). Komposisi andromed sendiri terdiri dari Tris hydroxy-aminomethane sebagai buffer, gula sebagai sumber energi, gliserol sebagai krioprotektan dan antibiotik untuk mencegah pertumbuhan bakteri. Andromed sebagai pengencer, mengandung lesitin yang berasal dari ekstrak kacang kedelai. Hasil penelitian Aku (2005) didapatkan bahwa di samping lesitin, andromed juga mengandung protein, karbohidrat, mineral (natrium, kalsium, kalium, magnesium, klorida, fosfor, dan mangan), asam sitrat, gliserol, lemak, lesitin, dan glyceryl phosphoryl choline (GPC) (Susilawati, 2011).

2.6 Antibiotik

Antibiotik adalah senyawa alami yang dihasilkan oleh jamur atau mikroorganisme lain yang dapat membunuh bakteri penyebab penyakit pada manusia ataupun hewan. Beberapa antibiotika merupakan senyawa sintetis (tidak dihasilkan oleh mikroorganisme) yang juga dapat membunuh atau menghambat

pertumbuhan bakteri. meski antibiotika memiliki banyak manfaat, tetapi penggunaannya telah berkontribusi terhadap terjadinya resistensi (Katzung, 2007).

Antibiotik yang membunuh bakteri disebut bakterisidal, sedangkan antibiotik yang menghambat pertumbuhan bakteri disebut bakteriostatik (Etebu and Ariekpar, 2016).

2.6.1 Sejarah Antibiotik

Antibiotik ditemukan pertama kali karena inisiasi Paul Ehrlich yang menemukan apa yang disebut *magic bullet* yang dirancang untuk menangani infeksi mikroba. Pada tahun 1910, Ehrlich menemukan antibiotika pertama, Salvarsan, yang digunakan untuk melawan syphilis. Penemuan Ehrlich kemudian diikuti oleh Alexander Fleming yang secara tidak sengaja menemukan penicillin pada tahun 1928. Tujuh tahun kemudian Gerhard Domagk menemukan sulfa, yang membuka jalan 8 penemuan obat anti TB, isoniazid. Tahun 1943, Selkman Wakzman dan Albert Schatz menemukan anti TB pertama yaitu streptomycin. Wakzman juga orang yang menciptakan istilah “antibiotik”. Sejak saat itu (tahun 1940) antibiotik sudah digunakan untuk mengobati infeksi bakteri (Zhang, 2007).

2.6.2 Klasifikasi Antibiotik

2.6.2.1 Berdasarkan Spektrum

Menurut Oliphant (2016), antibiotik dibagi menjadi 2 berdasarkan luas spektrum kerjanya, yaitu antibiotik broad spectrum adalah antibiotik yang bekerja dengan cara menghambat pertumbuhan maupun membunuh banyak spesies bakteri dan antibiotik narrow spectrum yaitu antibiotik yang hanya membunuh beberapa spesies bakteri.

2.6.2.2 Berdasarkan Mekanisme Kerja

Antibiotik dalam menghambat pertumbuhan dan mematikan bakteri berdasarkan mekanisme kerja (Etebu and Ariekpar, 2016), sebagai berikut:

1. Antibiotik menghambat sintesis peptidoglikan pada dinding sel bakteri seperti golongan β -lactam (penisilin, sefalosporin, dan carbapenem) dan golongan glikopeptida (vancomycin, bacitracin).
2. Antibiotik yang mengacaukan sintesa molekul lipoprotein di membran sel sehingga meningkatkan permeabilitas dan zat-zat yang ada di dalam sel dapat

merembas keluar, contohnya polimiksin dan daptomycin (Tjay and Rahardja, 2015).

3. Antibiotik yang menghambat sintesis protein dengan merusak fungsi subunit 50S ribosom seperti golongan kloramfenikol, makrolida, klindamisin, linezolid dan streptogramin serta antibiotik yang bekerja dengan berikatan pada subunit 30S ribosom seperti aminoglikosida dan tetrasiklin sehingga terjadi penghambatan pertumbuhan bakteri atau bacteriostatic.
4. Antibiotik yang mempengaruhi metabolisme asam nukleat dengan menghambat polimerisasi RNA dan menghambat topoisomerase seperti Quinolon, Rifampisin.
5. Antibiotik antimetabolik yang bekerja dengan memblokir enzim dalam proses sulfonamid asam folat seperti kombinasi sulfonamide dan trimethoprim

2.6.2.3 Berdasarkan Struktur Kimia

Klasifikasi antibiotik berdasarkan struktur kimianya sebagai berikut:

1. Beberapa antibiotik yang tergolong dalam golongan beta laktam selain penisilin dan sefalosporin adalah kabinem dengan spektrum yang lebih luas. Ada pula golongan antibiotik inhibitor beta laktamase, contohnya klavulanat, sulbaktam dan tazobaktam yang menghambat enzim yang dapat merusak cincin beta laktam, sehingga antibiotik ini memaksimalkan kinerja antibiotik golongan beta laktam seperti penisilin. (Goodman dan Gilman 2014)
2. Antibiotik golongan aminoglikosida, aminoglikosida dihasilkan oleh jenis-jenis fungi *Streptomyces* dan *Micromonospora*. Semua senyawa dan turunan semi-sintesisnya mengandung dua atau tiga gula-aminodi dalam molekulnya, yang saling terikat secara glukosidis. Spektrum kerjanya luas dan meliputi terutama banyak bacilli gram-negatif. Obat ini juga aktif terhadap gonococci dan sejumlah kuman gram-positif. Aktifitasnya adalah bakterisid, berdasarkan dayanya untuk menembus dinding bakteri dan mengikat diri pada ribosom di dalam sel. Contohnya streptomisin, gentamisin, amikasin, neomisin, dan paranomisin (Tjay dan Rahardja, 2007).

3. Antibiotik golongan tetrasiklin, Golongan ini digunakan dalam terapi infeksi klamidia, penyakit menular seksual, infeksi basilus, kokus, ISK, akne, dan infeksi lainnya (Goodman dan Gilman, 2014).
4. Antibiotik golongan makrolida, bekerja bakteristatis terhadap terutama bakteri grampositif dan spectrum kerjanya mirip Penisilin-G. Mekanisme kerjanya melalui pengikatan reversibel pada ribosom kuman, sehingga sintesa proteinnya dirintangi. Bila digunakan terlalu lama atau sering dapat menyebabkan resistensi. Absorbsinya tidak teratur, agak sering menimbulkan efek samping lambung-usus, dan waktu paruhnya singkat, maka perlu ditakarkan sampai 4x sehari (Tjay dan Rahardja, 2007).
5. Golongan penisilin masih banyak digunakan secara luas, contohnya amoksisilin, ampisilin, dan karboksipenisilin (Goodman dan Gilman 2014)
6. Antibiotik golongan linkomisin, dihasilkan oleh *srteptomyces lincolnensis*. Khasiatnya bakteristatis dengan spektrum kerja lebih sempit dari pada makrolidan terutama terhadap kuman gram positif dan anaerob. Berhubung efek sampingnya hebat kini hanya digunakan bila terdapat resistensi terhadap antibiotika lain. Contohnya linkomisin (Tjay dan Rahardja, 2007).
7. Kuinolon Antibiotik ini digunakan untuk terapi pada ISK, ISPA, PMS, infeksi tulang. Yang tergolong dalam golongan ini adaalh siprofloksasin, ofloksasin, levofloksasin dan trovafloksasi. (Goodman dan Gilman 2014)
8. kloramfenikol mempunyai spektrum luas. Berkhasiat bakteristatis terhadap hampir semua kuman gram positif dan sejumlah kuman gram negatif. Mekanisme kerjanya berdasarkan perintangan sintesa polipeptida kuman. Contohnya kloramfenikol (Tjay dan Rahardja, 2007).
9. Sefalosporin Golongan ini bekerja dengan mekanisme penghambatan sintesis dinding bakteri, contohnya sefadroksil, sefazolin, sefapirin, sefoxitin, sefmetazol, sefotetan, seftriaxon, sefixim, seftazidim, sefepim (Ciptaningtyas, 2014)

2.7 Gentamisin

Gentamisin ditemukan pada tahun 1963 di Amerika Serikat. Gentamisin merupakan aminoglikosida yang diisolasi dari *Micromonospora purpurea*. Zat ini aktif terhadap bakteri gram-negatif dan bakteri gram-positif serta banyak sifatnya

yang menyerupai aminoglikosida lainnya (Katzung,2004). Aminoglikosida adalah sekelompok obat-obatan bakterisid yang berasal dari berbagai spesies *Streptomyces* dan mempunyai sifat kimiawi, antimikroba, farmakologi dan efek toksik yang sama. Selain gentamisin, yang termasuk golongan aminoglikosida adalah streptomisin, kanamisin, neomisin, amikasin, tobramisin, sisomisin, netilmisin, dll (Katzung dkk, 2009). Antibiotik ini mempunyai spektrum yang luas terhadap kuman aerob dan fakultatif basil gram negatif. Aktifitasnya terutama terhadap *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, dan *Klebsiella sp*, *Morganella sp*, *Citrobacter sp*, *Serratia sp* dan *Enterobacter sp*, *Pseudomonas sp*, *Acinetobacter sp* dan *Haemophilus influenza* (Leibovici dkk, 2009). Aktifitas gentamisin adalah bakterisid, berdasarkan dayanya untuk menembus dinding bakteri dan mengikat diri pada ribosom (partikel partikel kecil dalam protoplasma sel yang kaya akan RNA, tempat terjadinya sintesa protein) di dalam sel. Proses translasi (RNA dan DNA) diganggu sehingga biosentasa protein dikacaukan. Untuk menembus dinding bakteri mencapai ribosom, aminoglikosida yang bermuatan kation positif akan berikatan secara pasif dengan membran luar dinding kuman gram negatif yang mengandung muatan negatif (Radigan dkk, 2009).

Gentamisin pernah diteliti secara farmakodinamik memiliki efek membunuhbakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* (Tam et al., 2006). Hasil penelitian Refdanita et al. (2004) menunjukkan aktivitas antibiotik golongan aminoglikosida terhadap bakteri yang memiliki persentase resistensi masing- masing *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 52,0 % dan *Staphylococcus aureus* sebesar 33,3 %

2.8 Bakteri

Bakteri adalah organisme prokariotik yang umumnya tidak mempunyai klorofil, dan produksi aseksualnya terjadi melalui pembelahan sel. Bakteri pada umumnya merupakan makhluk hidup yang juga memiliki DNA, akan tetapi DNA bakteri tidak berada pada nukleus yang juga tidak mempunyai membran sel. DNA ekstrakromosomal dari bakteri tergabung menjadi satu plasmid yang berbentuk kecil dan sirkuler (Jawetz, 2004). Menurut Dwidjoseputro (1985) Ukuran sel bakteri pada umumnya adalah 0,5-1,0 μm , dan mempunyai tiga bentuk dasar yaitu bulat atau kokus, batang atau Bacillus, dan bentuk spiral. Faktor yang

mempengaruhi pertumbuhan bakteri antara lain : pH, suhu, nutrisi, tekanan osmotik dan lain-lain. Bakteri mempunyai ketetapan suhu dan pH sendiri-sendiri untuk pertumbuhan yang optimal (Karsinah, 2011).

2.8.1 Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif

Secara umum jenis bakteri secara gram dapat dibedakan menjadi dua, yaitu gram positif dan gram negatif. Bakteri yang mempunyai gram negatif mempunyai zat lipid yang sangat mudah larut selama pencucian dengan menggunakan alkohol, sehingga pori yang ada pada dinding sel membesar sehingga menyebabkan permeabilitas pada dinding sel menjadi besar, dan zat warna yang diserap menjadi mudah untuk dilepaskan sehingga bakteri menjadi tidak berwarna. Sedangkan bakteri gram positif mempunyai sifat yang berbeda jika dibandingkan dengan bakteri gram negatif, dimana bakteri gram positif pada saat proses pencucian dengan alkohol mengalami denaturasi protein pada dinding selnya. Sehingga menyebabkan protein menjadi keras dan kaku, kemudian pori akan menjadi kecil dan permeabilitas menjadi kurang sehingga kristal violet tetap dipertahankan dan mengakibatkan muncul warna ungu. (Staf Pengajar FKUI, 1993)

2.9. Bakteri Dalam Semen Babi

Dalam cairan semen babi, jenis bakteri yang sering terjadi adalah *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, dan *Proteus* (Althouse dan Lu 2005).

1. Escherichia Coli

Escherichia coli adalah spesies bakteri komensal pada manusia dan hewan (Kabiru dkk., 2015). Bakteri ini merupakan bakteri yang masuk dalam golongan Enterobacteriaceae yang berbentuk basil pendek dan bersifat Gram negatif, berflagel, dan mempunyai ukuran berkisar 0,4 – 0,7 μm x 1,4 μm serta mempunyai kapsul (Kurniawan dan Taufik, 2017). Meskipun sebagian besar strain *Escherichia coli* tidak berbahaya, strain tertentu bersifat patogen dan menyebabkan penyakit seperti diare berair, diare berdarah, infeksi saluran kemih, meningitis, dan sepsis, yang dapat menyebabkan kematian (Cho dkk., 2018). *Escherichia coli* merupakan bakteri yang dapat tumbuh pada suasana aerob dan

anaerob serta dapat memfermentasi glukosa, dan bersifat oksidasi negatif (Widianingsih dan Jesu, 2018).

2. *Pseudomonas Aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri Gram negatif yang dapat menyebabkan penyakit pada hewan maupun manusia. Bakteri ini dapat ditemukan pada tanah, air, flora, di kulit, dan sebagian besar lingkungan manusia di dunia. *P. aeruginosa* dapat bergerak karena mempunyai flagel monotrika (flagel tunggal yang terletak pada kutub), berbentuk batang dengan ukuran 0,6 x 2 µm dan bersifat aerobik obligat yang dapat tumbuh dengan cepat pada berbagai tipe media. *Pseudomonas aeruginosa* dapat tumbuh baik pada suhu 37- 42°C (Jawetz, 1996).

3. *Staphylococcus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif berbentuk bulat, bergerombol seperti susunan buah anggur koloni berwarna abu-abu hingga kuning tua, koagulase positif, berdiameter 0,8-1,2 µm, mudah tumbuh pada media pertumbuhan dalam keadaan aerob, tidak berspora, dan tidak bergerak. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37OC, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25OC) Jawetz, 1996.

4. *Proteus Sp*

Proteus sp termasuk dalam famili enterobacteriaceae, bakteri bentuk batang, gram negatif, tidak berspora, tidak berkapsul, flagel peritrik, ada yang cocobacilli, polymorph, berpasangan atau membentuk rantai, kuman ini berukuran 0,4-0,8 x 1.0- 0,3 mm. Bakteri *Proteus sp*. Termasuk dalam bakteri non fruktosa fermenter, bersifat fakultatif aerobe/anaerob (Mufida et al., 2010).

2.10 Uji Kualitas Sperma

Kualitas semen dapat diukur secara makroskopik maupun mikroskopik. Evaluasi makroskopis meliputi volume, warna, bau, kekentalan dan pH semen. Evaluasi mikroskopis meliputi gerakan massa, motilitas spermatozoa, konsentrasi, persentase hidup dan mati spermatozoa dan abnormalitas spermatozoa (Susilawati, 2011).

2.10.1 Pemeriksaan Makroskopis

Pemeriksaan makroskopis meliputi volume, warna, bau, kekentalan dan pH semen.

- **Volume**, volume semen dapat dinilai dengan melihat skala pada tabung penampung semen (Arifiantini, 2012). Volume semen dipengaruhi oleh bangsa, ukuran badan, umur ternak, pakan, frekuensi penampungan semen dan lain-lain (Rizal dan Herdis, 2008).
- **Warna**, warna semen babi yang normal adalah krem atau putih susu jika konsentrasi tinggi. Kadang-kadang berwarna kuning, karena mengandung riboflavin yang disekresikan oleh kelenjar vesikula, warna merah biasanya akibat semen tercampur dengan darah akibat adanya perlakuan pada saluran reproduksi jantan (Rizal dan Herdis, 2008).
- **Bau**, bau dapat dinilai dengan cara mengibaskan tangan di atas tabung penampung (Arifiantini, 2012). Umumnya bau semen dikategorikan sebagai bau khas (Rizal dan Herdis, 2008).
- **Konsistensi**, konsistensi dikatakan encer apabila semen segera kembali ke dasar tabung, konsistensi sedang apabila semen segera kembali ke dasar tabung dengan kecepatan yang lebih lambat dibandingkan yang pertama dan konsistensi kental apabila semen kembali ke dasar tabung secara perlahan dan menyisakan sebagian semen di pinggiran tabung (Arifiantini, 2012). Semen yang digolongkan baik adalah yang memiliki konsistensi antara sedang dan kental (Rizal dan Herdis, 2008).
- **pH**, nilai pH semen yang normal adalah sekitar 7 (netral). pH dipengaruhi oleh konsentrasi spermatozoa yang terkandung didalamnya. Semakin tinggi konsentrasi spermatozoa, semakin rendah pH semen (Rizal dan Herdis, 2008). Terjadinya penurunan dan kenaikan pH disebabkan oleh akumulasi asam laktat, sedangkan peningkatan pH dapat disebabkan oleh banyaknya spermatozoa yang mati sehingga membentuk amoniak (Handarini, 2005).

2.10.2 Pemeriksaan Mikroskopis

1. Konsentrasi Spermatozoa

Hasil penelitian Sunami *et al.* (2017) menjelaskan bahwa konsentrasi dan konsistensi spermatozoa merupakan dua faktor yang berhubungan satu sama lain, nilai konsentrasi ini yang menentukan tingkat kepekatan spermatozoa, sebaliknya kepekatan spermatozoa juga menentukan jumlah konsentrasi spermatozoa. Nilai persentase konsistensi berbanding lurus dengan nilai rata-ran konsentrasi, hal ini menunjukkan bahwa semakin kental semen maka nilai konsentrasi spermatozoa semakin tinggi.

Tripriliawan *et al.* (2014) menjelaskan hasil pengamatan konsentrasi spermatozoa dengan interval penampungan semen 72 jam dan 96 jam, konsentrasi spermatozoa tertinggi pada interval penampungan 76 jam, dengan menghasilkan nilai rata-ran konsentrasi semen sebesar $1077,95 \pm 267,8096 \times 10^6$ untuk interval 96 jam dan rata-ran nilai sebesar $1014,19 \pm 265,3397 \times 10^6$. Saputra *et al.* (2017) menyatakan bahwa hormone testosteron yang tinggi dapat meningkatkan konsentrasi spermatozoa dalam semen. Khairi (2016) menjelaskan bahwa hubungan antara bobot badan dengan motilitas dan konsentrasi semen mempunyai hubungan negatif, semakin tinggi bobot badan, maka semakin rendah motilitas dan konsentrasi semennya, semakin tingginya bobot badan pejantan tidak diikuti dengan peningkatan jumlah konsentrasi spermatozoa dalam semen segar.

Teknik penghitungan spermatozoa adalah konsentrasi spermatozoa dihitung menggunakan haemocytometer dengan cara kerja sebagai berikut: Semen dihisap dengan pipet eritrocyt sampai angka 0,5 kemudian NaCl 3% dihisap sampai angka 10,1. Pipet eritrocyt digoyang-goyang tetes yang selanjutnya digoyang lagi selama 2-3 menit lagi. Setelah itu semen membentuk angka delapan selama 2-3 menit. Kemudian semen dibuang 1-2 tetes lagi, yang kemudian baru dituang pada kamar hitung yang di atasnya sudah ditutupi dengan cover glass sebanyak satu tetes. Spermatozoa dihitung pada 5 kotak (kamar hitung) yaitu pada sudut kanan dan kiri atas, sudut kanan dan kiri bawah, dan tengah. Seperti gambar 2. perhitungan menggunakan hemocytometer dalam menghitung spermatozoa yang ada didalam slide dengan jumlah skor yang pasti di setiap kamarnya, jumlah spermatozoa dalam kotak dihitung secara manual. Saat ini metode ini digantikan

dengan spektrophotometer atau colorimeter yang telah dikalibrasi dari perhitungan menggunakan haemositometer. Spektrophotometer ini dapat menggantikan penentuan konsentrasi spermatozoa dengan mesin di kalibrasi pada 550 nm. Larutan yang digunakan pada semen adalah sodium sitrat 2,9% dan 5 ml pada 10% formalin/liter. Kurva standar untuk menghitung konsentrasi dibandingkan dengan pengencer 0,5% dengan cahaya transmeter yang merupakan range untuk mengukur konsentrasi, akan tetapi fotometer tidak akurat digunakan pada semen yang terkontaminasi sehingga hasilnya tidak benar. Teknik penghitungan spermatozoa adalah konsentrasi spermatozoa dihitung menggunakan haemocytometer dengan cara kerja sebagai berikut: Semen dihisap dengan pipet eritrocyt sampai angka 0,5 kemudian NaCl 3% dihisap sampai angka 10,1. Pipet eritrocyt digoyang-goyang tetes yang selanjutnya digoyang lagi selama 2-3 menit lagi. Setelah itu semen membentuk angka delapan selama 2-3 menit. Kemudian semen dibuang 1-2 tetes cairan sebelum dimasukkan ke dalam bilik hitung, yang kemudian baru dituang pada bilik hitung yang di atasnya sudah ditutupi dengan deck glass sebanyak satu tetes. Spermatozoa dihitung pada 5 kotak (kamar hitung) yaitu pada sudut kanan dan kiri atas, sudut kanan dan kiri bawah, dan tengah. Perhitungan menggunakan hemocytometer dalam menghitung spermatozoa yang ada didalam slide dengan jumlah skor yang pasti di setiap kamarnya, jumlah spermatozoa dalam kotak dihitung secara manual. Saat ini metode ini digantikan dengan spektrophotometer atau colorimeter yang telah dikalibrasi dari perhitungan menggunakan haemositometer. Spektrophotometer ini dapat menggantikan penentuan konsentrasi spermatozoa dengan mesin di kalibrasi pada 550 nm. Larutan yang digunakan pada semen adalah sodium sitrat 2,9% dan 5 ml pada 10% formalin/liter. Kurva standar untuk menghitung konsentrasi dibandingkan dengan pengencer 0,5% dengan cahaya transmeter yang merupakan range untuk mengukur konsentrasi, akan tetapi fotometer tidak akurat digunakan pada semen yang terkontaminasi sehingga hasilnya tidak benar (Hafez, 2000)

2. Motilitas Spermatozoa

Motilitas adalah gerak maju ke depan dari spermatozoa secara progresif. Oleh karena tujuan akhir dari pengencer adalah untuk kegiatan inseminasi buatan

maka daya gerak spermatozoa secara progresif (maju kedepan) menjadi patokan yang mutlak diperhitungkan. Hal ini berarti sperma yang bergerak berputar-putar atau bergerak di tempat apalagi yang tidak bergerak tidak dijadikan tolak ukur penilaian kualitas semen beku atau semen cair. Artinya parameter motilitas disamping konsentarsi sperma merupakan parameter utama dalam menilai kelayakan semen yang akan digunakan dalam kegiatan IB (Triana, 2006).

Motilitas spermatozoa merupakan ciri utama dalam penilaian semen untuk inseminasi buatan. Motilitas spermatozoa membantu perjalanan spermatozoa dari tempat penyimpanannya menuju ke tempat terjadinya konsepsi (Triana, 2006). Faktor-faktor yang mempengaruhi motilitas spermatozoa adalah umur sperma, maturasi sperma, penyimpanan energy (ATP), agen aktif, biofisik dan fisiologi, cairan suspense dan adanya rangsangan hambatan (Triana, 2006).

- **Gerakan Massa**

Menurut Feradis (2010) menyatakan bahwa sperma dalam suatu kelompok mempunyai kecenderungan untuk bergerak bersama-sama ke satu arah yang menyerupai gelombang yang tebal dan tipis, bergerak cepat dan lamban tergantung dari spermatozoa hidup di dalamnya. Gerakan massa spermatozoa dapat dilihat jelas di bawah mikroskop dengan pembesaran (10x10) dan cahaya yang kurang.

Menurut Toelihere (1993), kualitas semen dapat ditentukan berdasarkan penilaian gerakan masa, yaitu sebagai berikut :

- a) Sangat baik (+++), terlihat gelombang-gelombang besar, banyak, gelap, tebal, dan aktif bagaikan gumpalan awan hitam saat akan turun hujan yang bergerak cepat berpindah-pindah tempat.
- b) Baik (++), bila terlihat gelombang-gelombang kecil, tipis, jarang, kurang jelas dan bergerak lamban.
- c) Lumayan (+), jika tidak terlihat gelombang melainkan hanya gerakan gerakan individual aktif progresif.
- d) Buruk (N, *necrospermia* atau 0), bila hanya sedikit atau tidak ada gerakan-gerakan induvidual.

• Gerakan Individu

Menurut Feradis (2010) gerakan melingkar dan gerakan mundur sering merupakan tanda-tanda cold shock atau media yang tidak isotonic dengan semen. Gerakan berayun atau berputar di tempat sering terlihat pada semen yang tua, apabila kebanyakan spermatozoa telah berhenti bergerak maka dianggap mati.

Menurut Toelihere (1993), penilaian gerakan individual spermatozoa mempunyai nilai 0 sampai 5, sebagai berikut:

0 = Spermatozoa imotil atau tidak bergerak.

1 = Gerakan berputar ditempat

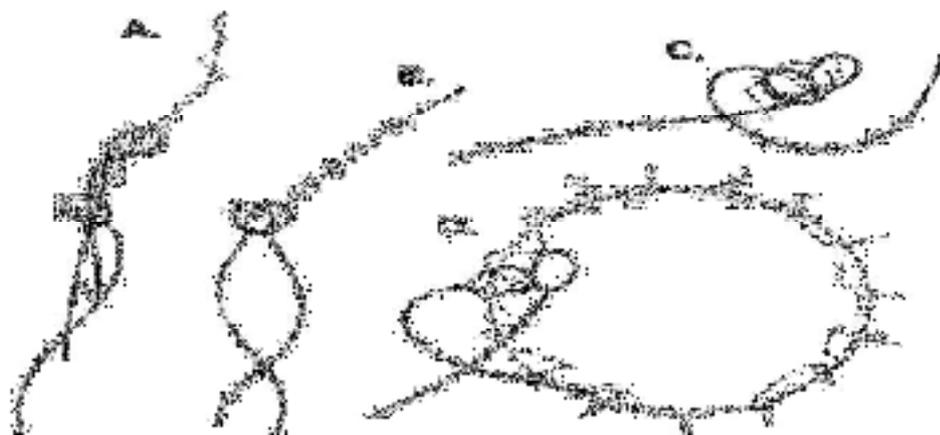
2 = Gerakan berayun atau melingkar, kurang dari 50% bergerak progresif, tidak ada gelombang.

3 = 50% sampai 80% spermatozoa bergerak progresif dan menghasilkan gerakan masa.

4 = Pergerakan progresif yang gesit dan segera membentuk gelombang, dengan 90% sperma motil.

5 = Gerakan yang sangat progresif, gelombang yang sangat cepat, menunjukkan 100% motil aktif.

Skala persentase pergerakan 0 sampai 100 atau skala penilaian dari 0 sampai 10 merupakan alat untuk mencapai tujuan yang sama. Persentase motilitas spermatozoa sapi dibawah 40% menunjukkan penilaian semen yang kurang baik dan 50% sampai 80% spermatozoa yang motil aktif progresif (Feradis, 2010).

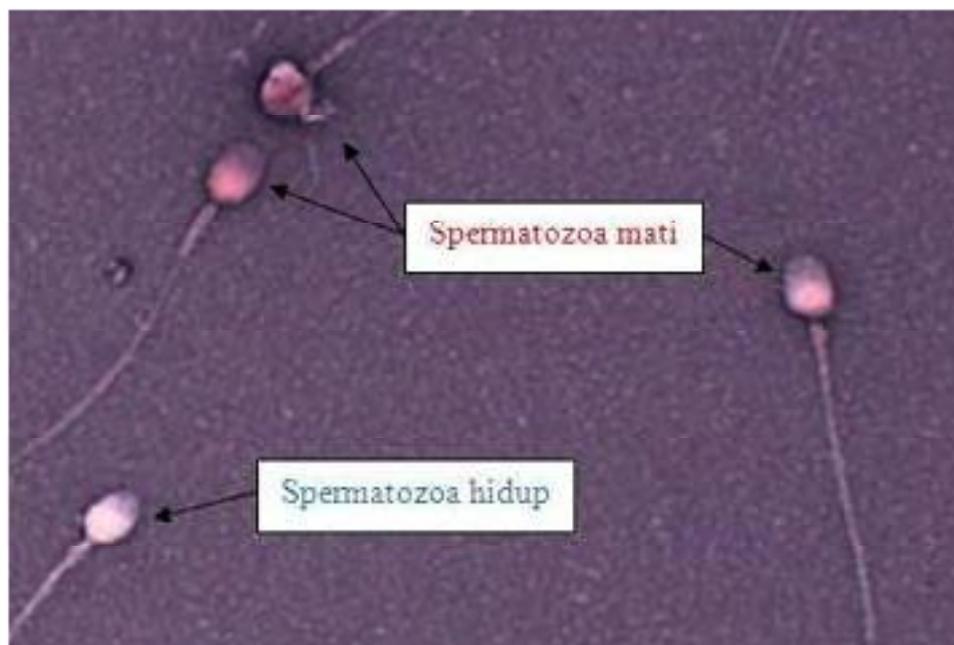


Gambar 2. Pola gerak spermatozoa (A dan B) spermatozoa dengan gerak progresif (C dan D) Spermatozoa tidak bergerak progresif (Toelihere 1993).

3. Viabilitas Spermatozoa

Viabilitas spermatozoa merupakan presentase sel spermatozoa yang hidup ditinjau dari kondisi membran sel. Evaluasi ini dilakukan dengan memberikan zat berupa pewarna bernama Eosin-negrosin yang diulas bersamaan dengan sampel semen diatas object glass dan kemudian diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Spermatozoa yang masih hidup tidak akan menyerap warna karena struktur membran sel masih utuh dan tidak rusak (Ismaya dan Dwitarizki, 2021).

Nilai persentase viabilitas spermatozoa akan sedikit lebih tinggi dari persentase motilitas. Hal ini dapat disebabkan karena spermatozoa yang tidak motil secara progresif namun sebenarnya masih hidup sehingga tidak akan menyerap warna dari larutan eosin-negrosin (Ismaya dan Dwitarizki, 2021). Tujuan pewarnaan diferensial adalah untuk mengetahui persentase sel-sel sperma yang mati dan yang hidup. Menurut Toelihere (1993) menyatakan bahwa semen yang baik memiliki persentase viabilitas diatas 50%.



Gambar 3. Spermatozoa Hidup dan Mati dengan pewarna eosin, kepala spermatozoa yang hidup tidak menyerap warna sedangkan kepala spermatozoa yang mati akan menyerap warna (Wongso, 2008).

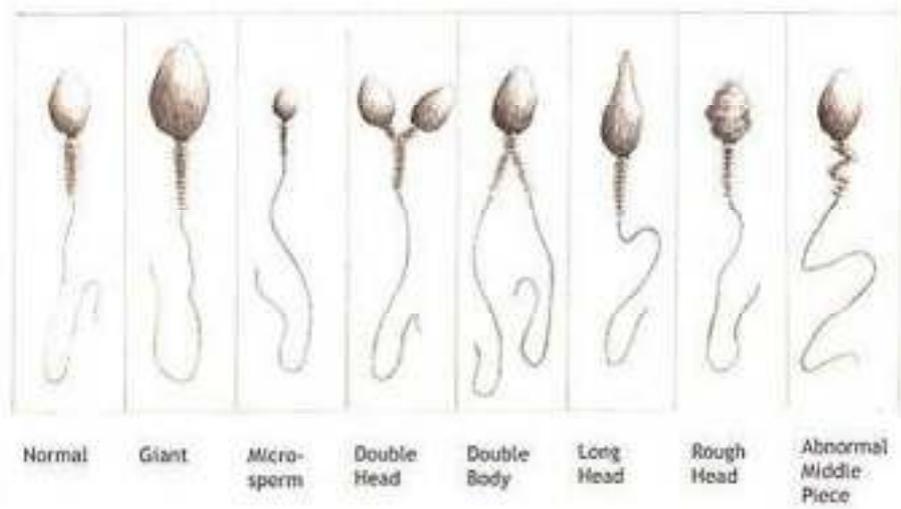
4. Abnormalitas Spermatozoa

Abnormalitas merupakan salah satu indikator dalam menentukan kualitas spermatozoa, karena struktur sel yang abnormal dapat menyebabkan gangguan dan hambatan pada saat fertilisasi, lebih jauh lagi dapat menyebabkan gagal bunting Yulniwati *et al*, (2009). Abnormalitas semen segar sebaiknya tidak melebihi 20% karena dapat menurunkan fertilitas (Toelihere, 1981). Menurut Hafez (2008) bahwa abnormalitas sperma telah dikelompokkan menjadi 3 yaitu abnormalitas primer, abnormalitas sekunder, dan abnormalitas tersier. Abnormalitas primer ditandai dengan kepala terlampau besar (macrocephalic), kepala terlampau kecil (microcephalic), kepala yang lebar, ekor dan badan yang berganda. Abnormalitas sekunder yang dapat ditandai dengan adanya butiran protoplasma pada pangkal ekor sperma tepatnya terjadi pada saat di caput epididymis. Sedangkan abnormalitas tersier yang ditandai dengan ekor putus, ekor melingkar, dan kepala membesar (Toelihere, 1981).

Abnormalitas primer salah satu kelainan pada sperma yang disebabkan oleh kelainan fisik yang terjadi pada saat proses pematangan spermatozoa didalam tubuli seminiferi, serta pada saat perjalanan spermatozoa melalui saluran organ kelamin jantan. Beberapa sebab terjadinya abnormalitas primer dikarenakan kegagalan proses spermatogenesis dan spermiogenesis, faktor genetik dan kondisi lingkungan yang tidak sesuai. Sedangkan pada abnormal sekunder kemungkinan disebabkan karena kesalahan preparasi ataupun pada saat ejakulasi, Beberapa hal yang dapat menjadikan spermatozoa abnormal tersier karena pembuatan preparat ulas yang menyebabkan kepala atau ekor spermatozoa putus Arifiantini (2006).

Menurut Kartasudjana (2001) metode untuk menentukan abnormalitas spermatozoa yaitu :

- Tempatkan preparat hasil pewarnaan diferensial pada meja objek mikroskop dan amati menggunakan pembesaran lensa 10x40. Apabila kurang jelas dapat menggunakan pembesaran 10 x 100.
- Amati sebanyak kurang lebih 200 sel sperma. Hitung berapa jumlah sperma yang bentuknya normal dan berapa yang tidak normal. Misalkan sperma yang normal sebanyak **A** sel dan yang abnormal **B** sel, maka tingkat abnormalitas sperma dalam sampel semen yang kita amati.



Gambar 4. Morfologi Spermatozoatozoa Abnormal (Kemal, 2012).

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Percobaan Fakultas Peternakan Universitas HKBP Nommensen di Desa Simalingkar B, Kecamatan Medan Tuntungan. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus 2023

3.2. Bahan dan Peralatan Penelitian

3.2.1. Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah semen seekor babi duroc dari peternakan masyarakat, Desa Namo Suro Baru, Kecamatan Biru-Biru, Kabupaten Deli Serdang yang telah dewasa kelamin, Pengencer BTS (*Beltsville Thawing Solution*), Eosin untuk pengamatan sperma hidup atau pun mati, Aquadest dan Gentamicin sebagai antibiotik pengencer.

3.2.2. Peralatan Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikroskop Binocular Olympus CX23, objek glass, cover glass, pipet tetes, water bath, termometer, botol semen, gelas ukur, kertas pH meter merk 1.09557.0001, tabung reaksi, rak tabung reaksi, beaker glass, bunsen, box pendingin, kertas saring, timbangan analitik, hand tally counter, pulpen, buku, tipex kertas dan tissue.

3.3. Metode Penelitian

3.3.1. Rancangan Percobaan

Metode penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan 4 ulangan dengan semen yang telah di tambahkan pengencer Beltsville Thawing Solution dan berbagai level gentamisin dengan perlakuan yang diberikan. Tempat penyimpanan adalah box pendingin (18°C). Waktu pengamatan dilakukan setelah 24 jam sampai selesai. Semua sampel yang diberi perlakuan masing- masing diulang sebanyak 4 kali. Peubah yang diamati meliputi pH, viabilitas spermatozoa, motilitas spermatozoa dan abnormalitas spermatozoa setelah pengenceran dan penyimpanan.

Materi penelitian adalah semen segar babi Duroc dari peternakan masyarakat, Desa Namo Suro Baru, Kecamatan Sibiru biru (Biru-Biru),

Kabupaten Deli Serdang yang telah di tambahkan pengencer Beltsville Thawing Solution dan berbagai level gentamisin dengan perlakuan yang diberikan adalah sebagai berikut:

P0 = 50g BTS tanpa tambahan Gentamisin.

P1 = 50g BTS + 0,3 g/l Gentamisin

P2 = 50g BTS + 0,6 g/l Gentamisin

P3 = 50g BTS + 0,9 g/l Gentamisin

Tabel 3. Skema Perlakuan

Perlakuan	Gentamisin (g/l)	Beltsville Thawing Solution non antibiotik (g)	Aquades (ml)
P0	0 g/l	50 g	100 ml
P1	0,3 g/l	50 g	100 ml
P2	0,6 g/l	50 g	100 ml
P3	0,9 g/l	50 g	100 ml

3.3.2. Penampungan Semen

Sumber semen berasal dari 1 ekor babi Duroc jantan dari peternakan masyarakat, Desa Namo Suro Baru, Kecamatan Biru-Biru, Kabupaten Deli Serdang yang telah dewasa kelamin dan telah biasa dilakukan penampungan sperma berkisar antara 2-3 tahun. Penampungan semen babi dilakukan dengan metode manual (*glove hand method*) menggunakan dummy show pada pagi hari. Pada permukaan tabung penampung semen diikatkan kertas saring sebagai penyaring semen sehingga gel pada semen babi tidak ikut masuk ke dalam tabung penampung. Cairan bening yang pertama keluar harus dibuang karena tidak mengandung spermatozoa.

Pejantan yang akan ditampung semennya digiring menuju ruang tampung kemudian dibiarkan untuk mendekati induk buatan (*dummy sow*). Proses pendekatan yang dilakukan menggosok – gosokan punggung pejantan pada dummy sow, mencium dan menjilatnya. Proses ini berlangsung sekitar 5 menit. Setelah pejantan menaiki *dummy sow*, penis akan keluar, tangkap/genggam dengan erat (tidak keras/menjejit). Ikuti dengan menarik perlahan keluarnya penis sehingga maksimal. Lakukan rangsangan dengan cara memijat secara perlahan ujung penis dan ibu jari digunakan menahan semburan pada semen agar tidak terpercik. Lakukan rangsangan selama proses penampungan, hal ini dilakukan agar semen

dapat keluar secara maksimal. Usahakan agar panjang penis yang keluar tidak berubah dan dekatkan penis dengan gelas tampung untuk menghindari terjadinya stress pada spermatozoa, sehingga tidak banyak yang mati. Penampungan selesai dilakukan apabila pejantan sudah menarik penisnya dan turun dari *dummy sow*. Semen yang telah dikoleksi segera dibawa ke laboratorium dalam keadaan tidak terkena cahaya matahari.

Penampungan semen empat kali atau lebih dalam seminggu, jika dilakukan terus menerus akan memengaruhi kuantitas dan kualitas semen. Sebaiknya penampungan dilakukan satu sampai tiga kali seminggu, dengan penampungan dua kali seminggu kualitas dan kuantitas semen dari minggu ke minggu akan tetap baik dan kondisi ternak dapat terjaga, asal makanan dan perawatannya baik (Partodihardjo, 1992).

3.4. Prosedur Penelitian

1. Penampungan semen dilakukan pada pukul 10.30 WIB, Penampungan semen dilakukan manual (*glove hand method*) dengan menggunakan dummy sow dan semen di tampung ke dalam gelas beaker, semen segar yang di tampung segera dibawa ke dalam ruangan untuk diproses lebih lanjut ke tahap pengenceran.
2. Pembuatan bahan pengencer dilakukan dengan cara melarutkan 50 gram Beltsville Thawing Solution (BTS) di larutkan dengan 1 liter aquabides dan dihomogenkan dalam suhu 30°C.
3. Semen yang sudah disiapkan dibagi 4 ke dalam gelas ukur kemudian lanjut ke tahap pengenceran, dilakukan dengan cara menambahkan semen secara perlahan-lahan sedikit demi sedikit melewati dinding gelas berisi larutan pengencer, kemudian tabung digoyang-goyang perlahan agar semen dan larutan pengencer tercampur homogen. Salah satu hal penting yang perlu diperhatikan dalam proses pengenceran adalah suhu pengencer harus sama dengan suhu semen saat dilakukan pencampuran. Setelah itu ditambahkan gentamisin sesuai dengan perlakuan masing-masing selanjutnya dalam satu gelas ukur semen yang sudah di campur pengencer dibagi ke dalam 4 botol semen yang berukuran 50 ml lalu di simpan ke dalam box pendingin dengan suhu 18°C.

4. Mengukur pH adalah dengan cara memotong sedikit kertas pH meter lalu di jepit menggunakan pinset kemudian di masukkan ke dalam botol semen kira-kira sekitar 15 detik lalu diangkat kemudian warna yang timbul dicocokkan dengan perubahan warna pada standar yang ada.
5. Pengamatan motilitas adalah dengan cara mengambil sampel semen dari tabung reaksi yang sudah di hangatkan di water bath dengan suhu 37°C menggunakan pipet tetes kemudian di teteskan sedikit ke atas object glass lalu di tutup dengan cover glass setelah itu diamati di mikroskop, spermatozoa di nilai dari 5 lapang pandang kemudian di bandingkan dengan spermatozoa yang maju ke depan dan gerakan gerakan yang lain, nilai dinyatakan dengan %.
6. Pengamatan viabilitas adalah dengan cara pertama menyiapkan object glass 3 buah yang sudah di bersikan dengan alkohol kemudian mengambil sampel semen dari tabung reaksi yang sudah di hangatkan di water bath dengan suhu 37 °C menggunakan pipet tetes kemudian di teteskan sedikit ke atas object glass selanjutnya ditambahkan eosin nigrosin dengan kira-kira perbandingan 1:3 kemudian di homogenkan dengan perlahan menggunakan object jelas setelah itu membuat preparat ulas di object glass lalu di keringkan di atas api busen dengan cara di goyang-goyangkan sekitar 10-15 detik sesudah kering lalu di amati di bawah mikroskop, yang menyerap warna adalah spermatozoa yang mati sedangkan yg hidup tidak menyerap warna lalu di hitung dari 10 lapang pandang menggunakan counter.
7. Pengamatan abnormalitas adalah setelah selesai pengamatan viabilitas dilanjutkan dengan pengamatan abnormalitas dengan preparat yang sama kemudian di amati dibawah mikroskop melihat spermatozoa yang abnormal, dimana abnormalitas ditandai dengan kepala terlampau besar, kepala terlampau kecil, kepala yang lebar, ekor dan badan berganda, ekor terputus dan ekor melingkar. lalu di hitung dari 10 lapang pandang menggunakan counter.

3.5. Pengamatan Semen

Semen segar diamati secara makroskopis maupun mikroskopis, pengamatan dilakukan untuk mengetahui kelayakan semen segar diolah lanjut menjadi semen cair. Volume semen babi tanpa gelatin berkisar 200-500 ml dan berwarna putih.

Nilai pH yang didapatkan normal dan berada pada kisaran pH hasil penelitian (Garner dan Hafez, 2000) yaitu 7.3-7.8 (Tabel 4).

Tabel 4. Nilai karakteristik semen segar babi (Rerata±SEM)

Karakteristik	Nilai rata-rata
Makroskopis	
Volume semen (ml)	209.33±35.50
Warna	Putih-keruh
Ph	7.34±0.05
Mikroskopis	
Motilitas spermatozoa %	76.25±1.91
Viabilitas spermatozoa %	80.70±2.45
Konsentrasi spermatozoa %	322.45±68.56
Abnormalitas spermatozoa %	8.26±0.83

Sumber: (Garner dan Hafez, 2000)

3.6. Parameter Yang Diamati

3.6.1. pH

Untuk menentukan tingkat keasaman semen dilakukan dengan menggunakan Kertas pH meter. Dengan cara memotong sedikit kertas pH meter lalu di jepit menggunakan pinset kemudian di masukkan ke dalam botol semen kira-kira sekitar 15 detik lalu diangkat kemudian warna yang timbul dicocokkan dengan perubahan warna pada standar yang ada. kisaran pH semen babi menurut (Garner and Hafez, 2000) yaitu antara 7.3 – 7.8.

3.6.2. Motilitas Spermatozoa

Sampel semen ditetaskan di atas objek glass lalu ditutup cover glass dan diamati menggunakan mikroskop dengan pembesaran 40x10. Penilaian dilakukan dengan menghitung persentase spermatozoa yang pergerakannya progresif maju ke depan dibandingkan dengan yang tidak bergerak sebanyak ± 100 spermatozoa dengan satuan persen (Partodiharjo, 1992).

$$\% \text{Motilitas spermatozoa} = \frac{\text{jumlah spermatozoa progresif}}{\text{total spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

3.6.3 Viabilitas Spermatozoa

Satu tetes spermatozoa ditetaskan di atas objek glass dan ditambahkan dengan satu tetes eosin, kemudian dibuat preparat ulas dan dikeringkan kemudian

diamati $\pm 100\%$ spermatozoa menggunakan mikroskop dengan pembesaran 40×10 dan dihitung spermatozoa yang hidup (tidak menyerap warna) dan spermatozoa yang mati (menyerap warna) kemudian dicari persentasenya (Partodiharjo, 1992).

Spermatozoa dengan permeabilitas baik akan menghambat masuknya warna ke dalam membrane sehingga tidak dapat menyerap warna (transparan), demikian juga sebaliknya. Perhitungan viabilitas dilakukan dengan mencari proporsi spermatozoa yang menyerap warna dan tidak menyerap warna.

$$\% \text{Viabilitas spermatozoa} = \frac{\text{jumlah spermatozoa hidup}}{\text{total spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

3.6.4. Abnormalitas Spermatozoa

Persentase abnormalitas spermatozoa dilakukan dengan menggunakan warna yang digunakan untuk pemeriksaan persentase abnormalitas spermatozoa di bawah mikroskop dengan pembesaran 40×10 . Perhitungannya adalah dengan membandingkan antara spermatozoa yang abnormal dengan spermatozoa yang normal pada luas pandang yang sama.

$$\% \text{Abnormalitas spermatozoa} = \frac{\text{jumlah spermatozoa abnormal}}{\text{total spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

3.7 Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) non faktorial dengan model matematika yang di kemukakan Supardi (2013), yaitu:

$$Y_{ij} = \mu + \pi_i + \epsilon_{ij} \quad \dots i = 1, 2, 3, 4 \text{ (t)}$$

$$j = 1, 2, 3, 4 \text{ (r)}$$

Keterangan :

Y_{ij} = Respon atau nilai pengamatan pada perlakuan ke i dan ulangan ke j

μ = Nilai tengah umum

π_i = Pengaruh perlakuan pemberian Gentamisin ke i

ϵ_{ij} = Galat percobaan pemberian Gentamisin ke i dan ulangan ke j

i = Jumlah perlakuan

j = Jumlah ulangan pada perlakuan i

Jika analisa menunjukkan perbedaan yang nyata atau sangat nyata, maka akan dilakukan uji lanjut.

