

Identifikasi Bakteri dan Efektivitas Antibiotik dalam Pengencer untuk Mengendalikan Pertumbuhan Bakteri pada Semen Sapi Simental

*(IDENTIFICATION OF BACTERIA AND EFFECTIVENESS
OF ANTIBIOTICS IN DILUENTS TO CONTROL
BACTERIAL GROWTH IN SIMMENTAL CATTLE SEMEN)*

Esti Rahayu^{1*}, Masrizal², Jaswandi², I Gde Eka Budhiyadnya³

¹Program Magister Ilmu Peternakan,
Gedung Pascasarjana, Kampus Limau Manis,

²Fakultas Peternakan, Universitas Andalas,
Kampus Limau Manis, Kecamatan Pauh,
Kota Padang, Sumatera Barat, Indonesia 25163

³Balai Veteriner Bukittinggi,
Jl. Raya Bukittinggi - Payakumbuh, Tabek Panjang,
Baso, Agam, Sumatera Barat, Indonesia 26192
Email: rahayuestiayu@gmail.com

ABSTRACT

Bacterial contamination in cattle semen is a major factor affecting semen quality and the success of artificial insemination programs. This study was aimed to identify bacterial species present in frozen Simmental cattle semen and effectivity of various antibiotics processed with different semen extenders. The research was conducted in three stages: 1). fresh semen collection from eight Simmental bulls at UPTD BPTSD Tuah Sakato; 2) semen dilution with three treatments (P1= no antibiotics; P2= Penicillin-Streptomycin; P3= a combination of Gentamicin, Tylosin, Lincomycin, and Spectinomycin/GTLS); and 3) bacterial isolation and identification were performed on fresh, liquid, and frozen semen at the Bacteriology Laboratory, of Bukittinggi Veterinary Center, in West Sumatra. Isolation used selective media, followed by Gram staining, motility tests, catalase, oxidase, and biochemical tests. The results showed that from fresh semen was identified 12 species of bacteria, meanwhile from frozen semen was identified a number of bacteria such as *Alcaligenes* spp., *Chromobacterium* spp., *Corinebacterium* spp., *Klebsiella* spp., *Micrococcus* spp., *Alcaligenes* spp., *Haemophilus* spp., *Mycoplasma* spp., *Proteus* spp., and *Serratia* spp. Semen extended without antibiotics (P1) had the highest level of bacterial contamination with five species detected; P2 identified three species; and P3 also detected five species but with lower bacterial load. Opportunistic pathogens such as *Klebsiella* spp. and *Proteus* spp. were still present even with GTLS use. In conclusion, bacteria were still found in frozen semen that was diluted with diluent supplemented with antibiotic. Adding the GTLS antibiotic combination to the semen extender was more effective at suppressing pathogenic bacterial growth than Penicillin-Streptomycin, supporting improved frozen semen quality and artificial insemination success rates.

Keywords: antibiotics, bacteria; semen extender, frozen semen; Simmental cattle.

ABSTRAK

Kontaminasi bakteri pada semen sapi merupakan salah satu faktor yang memengaruhi kualitas dan keberhasilan program inseminasi buatan. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi jenis bakteri yang terdapat pada semen beku sapi simental dan efektivitas variasi antibiotik dengan perlakuan pengencer berbeda. Penelitian dilaksanakan melalui tiga tahap, yaitu koleksi semen segar dari delapan ekor sapi simental di Unit Pelaksana Teknis Daerah (UPTD) Balai Pengembangan Teknologi dan Sumber Daya (BPTSD) Tuah Sakato, Payakumbuh, Sumatra Barat. Pengenceran semen dilakukan dengan tiga perlakuan (P1= tanpa antibiotik; P2= antibiotik Penicillin-Streptomycin; P3= kombinasi Gentamisin, Tilosin, Lincomisin, Spektinomisin/GTLS), serta isolasi dan identifikasi bakteri pada semen cair dan semen beku di Laboratorium Bakteriologi, Balai Veteriner Bukittinggi, Sumatra Barat. Metode isolasi menggunakan media selektif dan identifikasi dilakukan melalui pewarnaan Gram, uji motilitas, katalase, oksidase, dan uji biokimia. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari semen segar diisolasi 12 jenis bakteri, sedangkan dari semen beku diidentifikasi bakteri *Alcaligenes* spp., *Chromobacterium* spp., *Corinebacterium* spp., *Klebsiella* spp., *Micrococcus* spp., *Alcaligenes* spp., *Haemophilus* spp., *Mycoplasma* spp., *Proteus* spp., dan *Serratia* spp. Semen tanpa antibiotik (P1) memiliki tingkat kontaminasi bakteri tertinggi dengan lima jenis bakteri terdeteksi, sedangkan pada perlakuan P2 teridentifikasi tiga jenis bakteri dan P3 lima jenis bakteri namun dengan populasi lebih terkendali. Bakteri oportunistik seperti *Klebsiella* spp. dan *Proteus* spp. masih ditemukan meskipun menggunakan GTLS. Simpulannya, pada semen beku yang diencerkan dengan antibiotik masih ditemukan bakteri. Penambahan kombinasi antibiotik GTLS pada pengencer lebih efektif menekan pertumbuhan bakteri patogen dibandingkan Penicillin-Streptomycin, serta berpotensi meningkatkan mutu semen beku dan keberhasilan inseminasi buatan.

Kata-kata kunci: antibiotik; bakteri; pengencer; sapi simental; semen beku

PENDAHULUAN

Program inseminasi buatan (IB) merupakan salah satu teknologi reproduksi yang berperan penting dalam meningkatkan produktivitas sapi potong maupun sapi perah di Indonesia. Kunci keberhasilan IB terletak pada kualitas semen yang digunakan dan harus memenuhi standar mutu tertentu agar mampu mendukung tingkat fertilitas yang optimal. Salah satu faktor kritis yang memengaruhi kualitas semen adalah kontaminasi bakteri, yang dapat menurunkan motilitas, viabilitas dan daya hidup spermatozoa, baik selama proses pengolahan maupun penyimpanan semen beku (Foote, 2002).

Kontaminasi bakteri pada semen sapi dapat terjadi pada berbagai tahapan, mulai dari penampungan semen, proses pengenceran, hingga distribusi dan penyimpanan. Alat yang tidak steril, lingkungan yang tidak higienis,

serta prosedur penanganan yang kurang tepat dapat meningkatkan risiko masuknya mikroorganisme patogen ke dalam semen (Bielanski dan Vajta, 2009). Bakteri yang terkontaminasi tidak hanya berdampak pada penurunan kualitas semen, tetapi juga dapat menjadi sumber penularan penyakit pada sapi betina, mengakibatkan infeksi pada saluran reproduksi, serta menu-runkan angka kebuntingan (Thibier dan Guerin, 2000).

Beberapa jenis bakteri patogen yang umum ditemukan pada semen sapi antara lain *Brucella abortus*, *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*, yang diketahui dapat merusak struktur spermatozoa dan menurunkan fertilitas (Althouse *et al.*, 2015; Goularte *et al.*, 2019). Oleh karena itu, penambahan antibiotik ke dalam pengencer semen telah menjadi prosedur

standar untuk menekan pertumbuhan mikroorganisme. Di Indonesia, Balai Inseminasi Buatan (BIB) umumnya menggunakan kombinasi Penisilin dan Streptomisin. Namun, penggunaan antibiotik yang sama secara terus-menerus berpotensi memicu resistansi bakteri, sehingga efektivitasnya dapat menurun dari waktu ke waktu (Akhter *et al.*, 2008).

Tantangan terhadap resistansi antibiotik, beberapa peneliti melaporkan telah mengembangkan formulasi antibiotik baru atau kombinasi antibiotik dengan senyawa antimikrob alami. Kombinasi antibiotik Gentamisin, Tilosin, Linkomisin dan Spektinomisin (GTLS) terbukti efektif mengendalikan berbagai mikroorganisme dalam semen sapi di Amerika dan Eropa (Morrel dan Wallgren, 2014). Di Indonesia, Sitepu dan Marisa (2020) juga menunjukkan bahwa penambahan Gentamisin dengan minyak atsiri jeruk manis dapat meningkatkan kualitas semen sapi simmental. Meskipun demikian, masih terdapat keterbatasan informasi mengenai efektivitas berbagai kombinasi antibiotik pada pengencer semen sapi simmental, khususnya dalam mengendalikan jenis-jenis bakteri yang teridentifikasi pada semen beku. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi jenis bakteri yang terdapat pada semen sapi simmental yang diberi antibiotik dengan pengencer berbeda, sehingga dapat menjadi dasar perbaikan manajemen produksi semen beku dan strategi pengendalian kontaminasi bakteri secara lebih efektif. Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri dan efektivitas antibiotik dalam pengencer untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri pada semen sapi simmental.

METODE PENELITIAN

Tahapan penelitian ini terdiri atas tiga tahap yaitu 1). Koleksi semen dan identifikasi pada semen segar, 2). Identifikasi bakteri pada semen cair yang dan 3). Identifikasi pada semen beku. Semen dikoleksi dari delapan sapi ekor sapi simental di Unit Pelayanan Teknis Daerah Balai Pengembangan Teknologi dan Sumber Daya (BPTSD) Tuah Sakato.

Payakumbuh, Sumatera Barat. Semen dikoleksi dengan vagina buatan yang telah disterilkan dan sapi pejantan digunakan sebagai (pengusik (*teaser*). Prosedur koleksi semen dilakukan sesuai *standard operating procedure* UPTD BPTSD Tuah Sakato. Sampel semen yang diperoleh melalui penggunaan vagina buatan dimasukkan ke dalam tabung steril, kemudian disimpan dalam *cold box* pada suhu 4°C dan segera dikirim ke Laboratorium Bakteriologi Balai Veteriner Bukittinggi, Sumatera Barat untuk dilakukan proses isolasi dan identifikasi.

Isolasi dan identifikasi bakteri dilakukan dengan memasukkan sebanyak 200 µL sampel semen ke dalam media agar, lalu diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C, dengan posisi cawan petri terbalik. Media agar yang digunakan yaitu *MacConkey Agar* (MCA) untuk menumbuhkan bakteri Gram negatif, media *Blood Agar* (BA) untuk menumbuhkan bakteri Gram positif dan negatif, media *Eosin Methylene Blue* (EMB) agar untuk menumbuhkan bakteri *E. coli*. Ketiga media tersebut masing-masing diteteskan sampel semen segar (200 µL) di atas permukaan agar lalu digores di permukaan media agar. Pada media *Nutrient Broth* (NB) nomor dua yang telah diberi suplemen selektif untuk menumbuhkan bakteri *Campylobacter*, dimasukkan 200 µL sampel semen lalu dihomogenkan dan diinkubasi. Setelah itu media NB nomor dua diambil pakai ose lalu ditanam di media *selektif Campylobacter Blood Free Selective Agar Base* (modified CCDA-Preston) lalu diinkubasi. Identifikasi bakteri dilanjutkan dengan uji motilitas, pewarnaan Gram, uji katalase dan oksidase, uji terhadap gula-gula.

Tahap kedua isolasi dan identifikasi bakteri pada semen cair. Pengenceran yang digunakan dalam penelitian ini yang terdiri atas tris buffer (*Tris hydroxymethyl aminomethane*, asam sitrat, fruktosa dan akuabidest), krioprotektan (kuning telur 20% dan gliserol 6%), antibiotik (Penisilin, Streptomisin, Gen-tamisin, Tilosin, Linkomisin, Spektinomisin). Pengenceran terse-

but dibagi menjadi tiga perlakuan yaitu P1 (non antibiotoik), P2 (antibiotik Penisilin 1000 IU ml⁻¹, Strep-tomisin 1 mg ml⁻¹ (PS), P3 (antibiotik Gentamisin 25 mg ml⁻¹, Tilosin 5 mg ml⁻¹, Linkomisin 15 mg ml⁻¹ dan Spektinomisin 30 mg ml⁻¹ (GTLS). Formulasi pengencer ini mengacu pada protokol standar UPTD BPTSD Buah Sakato. Sebanyak 5 mL dari masing-masing jenis pengencer disimpan dalam *cold box* bersuhu 4°C dan dikirim ke Laboratorium Bakteriologi Balai Veteriner Bukittinggi untuk proses lanjutan. Prosedur isolasi, identifikasi, dan enumerasi koloni bakteri pada masing-masing pengencer dilakukan sesuai dengan metode yang diterapkan pada tahap sebelumnya. Tahap ketiga pada penelitian ini adalah mengidentifikasi keberadaan bakteri pada semen beku serta mengevaluasi efektivitas penambahan antibiotik terhadap pertumbuhan bakteri dalam semen beku. Sampel semen beku dibawa ke Laboratorium Bakteriologi Balai Veteriner Bukittinggi untuk proses lanjutan yaitu isolasi dan identifikasi, prosedur isolasi dan identifikasi, diawali dengan *straw dithawing* pada suhu 37°C, selama 30 detik. Data dari hasil identifikasi bakteri dianalisis secara deskriptif untuk memberikan gambaran tentang keberadaan bakteri pada semen sapi Simental di UPTD BPTSD Buah Sakato.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Keberadaan Bakteri pada Semen Segar

Keberadaan bakteri pada semen segar sapi simental yang diisolasi dari UPTD BPTSD Buah Sakato menunjukkan beragam jenis mikroorganisme, baik Gram positif maupun Gram negatif. Total ditemukan 12 jenis bakteri, di antaranya Gram positif: *Actinomyces* spp., *Erysipelothrix* spp., *Kurthia* spp., dan *Micrococcus* spp., serta Gram negatif: *Alcaligenes* spp., *Archania* spp., *Chromobacterium* spp., *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., dan *Serratia* spp. Keberagaman ini menunjukkan bahwa meskipun terdapat kontaminasi mikrob, hal tersebut masih dalam kendali dan belum terlalu mengganggu kualitas semen.

Beberapa spesies bakteri seperti

Klebsiella spp., *Proteus* spp., dan *Citrobacter* spp. Merupakan bakteri oportunistik yang bisa menginfeksi saluran reproduksi atau mencemari semen dari lingkungan, peralatan, atau selama proses penanganan. Namun, keberadaan *Micrococcus* spp., dan *Kurthia* spp., lebih sering dikaitkan dengan kontaminasi dari kulit atau udara sekitar dan umumnya tidak patogenik jika jumlahnya terkendali (Chandrasekaran *et al.*, 2021).

Penemuan ini memperlihatkan betapa pentingnya penerapan manajemen kesehatan hewan dan sanitasi yang ketat di pusat produksi semen. Rabusin *et al.* (2019) menekankan bahwa kesehatan hewan yang terjaga melalui biosekuriti dan pemeriksaan rutin akan berdampak positif terhadap kualitas semen dan mencegah penularan penyakit melalui inseminasi buatan. Selain itu, penelitian sebelumnya yang dilaporkan oleh Singh *et al.* (2018) juga menegaskan bahwa kualitas mikrobiologis semen sangat dipengaruhi oleh higiene selama proses koleksi dan penanganan. Menurut laporan Islam *et al.* (2020), semen yang terkontaminasi bakteri dapat menyebabkan penurunan motilitas sperma, kerusakan membran plasma, bahkan kematian sperma, tergantung pada jenis dan jumlah bakteri pencemar. Oleh karena itu, walaupun hasil penelitian ini menunjukkan keberadaan bakteri, kondisi tersebut belum menunjukkan infeksi sistemik atau kontaminasi berat, yang berarti bahwa manajemen produksi semen di UPTD BPTSD Buah Sakato sudah cukup baik. Selain itu, penggunaan antibiotik dalam pengencer semen juga dapat membantu menekan pertumbuhan bakteri kontaminan. Namun, perlu dilakukan evaluasi berkala untuk memastikan efektivitasnya dan mencegah terjadinya resistansi (Kastelic dan Thundathil, 2016). Pemantauan (*monitoring*) mikrobiologis secara rutin sangat disarankan untuk mempertahankan kualitas dan keamanan reproduksi pada hewan ternak.

Keberadaan Bakteri pada Semen Cair

Hasil penelitian pada semen cair sapi simental menunjukkan bahwa variasi

Tabel 1. Jenis bakteri pada semen cair sapi simental

No	Pengencer	Jenis Bakteri
1	P1	<i>Haemophilus</i> spp., <i>Klebsiella</i> spp., <i>Micrococcus</i> spp., <i>Mycoplasma</i> spp., dan <i>Serratia</i> spp.,
2	P2	<i>Chromobacterium</i> spp., <i>Haemophilus</i> spp., dan <i>Serratia</i> spp.,
3	P3	<i>Klebsiella</i> spp., dan <i>Micrococcus</i> spp.,

Keterangan: P1= pengencer tanpa antibiotik; P2 = pengencer dengan antibiotik penisilin dan streptomisin; P3 = pengencer dengan antibiotik kombinasi gentamisin, Tilosin, Lincomisin dan Spektinomisin

Tabel 2. Jenis bakteri pada semen beku sapi simental

No	Pengencer	Jenis Bakteri
1	P1	<i>Alcaligenes</i> spp., <i>Chromobacterium</i> spp., <i>Corinebacterium</i> spp., <i>Klebsiella</i> spp., dan <i>Micrococcus</i> spp.,
2	P2	<i>Alcaligenes</i> spp., <i>Haemophilus</i> spp., dan <i>Mycoplasma</i> spp.,
3	P3	<i>Chromobacterium</i> spp., <i>Haemophilus</i> spp., <i>Klebsiella</i> spp., <i>Proteus</i> spp., dan <i>Serratia</i> spp.,

Keterangan: P1= pengencer tanpa antibiotik; P2 = pengencer dengan antibiotik penisilin dan streptomisin; P3 = pengencer dengan antibiotik kombinasi gentamisin, Tilosin, Lincomisin dan Spektinomisin

jenis pengencer dengan perlakuan antibiotik yang berbeda memengaruhi jumlah dan jenis bakteri yang berhasil diisolasi. Pada perlakuan tanpa penambahan antibiotik (P1), teridentifikasi beberapa bakteri patogen, di antaranya *Haemophilus* spp., *Klebsiella* spp., *Micrococcus* spp., *Mycoplasma* spp., dan *Serratia* spp.. Sebaliknya, penggunaan antibiotik Penicillin-Streptomycin (P2) dapat menekan jumlah bakteri yang terdeteksi, hanya memunculkan *Chromobacterium* spp., *Haemophilus* spp., dan *Serratia* spp. Pada perlakuan dengan kombinasi antibiotik GTLS (Gentamisin, Tilosin, Lincomisin dan Spektinomisin) (P3), hanya ditemukan *Klebsiella* spp. dan *Micrococcus* spp. (Tabel 1).

Kehadiran bakteri-bakteri tersebut dapat menurunkan kualitas semen, seperti yang dilaporkan oleh Aurich (2018) bahwa kontaminasi bakteri dapat memengaruhi motilitas, viabilitas, serta meningkatkan abnormalitas sel spermatozoa. Patogen oportunistik seperti *Klebsiella* spp., dan *Serratia* spp., memiliki kemampuan menghasilkan enzim proteolitik yang berpotensi merusak membran spermatozoa, sehingga berdampak negatif pada fertilitas (Foote, 2016; Kumar et

al., 2020). Penerapan antibiotik pada pengencer semen bertujuan menghambat proliferasi mikroorganisme patogen agar kualitas semen tetap terjaga selama penyimpanan. Kasimanickam et al. (2019) menjelaskan bahwa gentamisin efektif untuk mengendalikan bakteri Gram negatif, sedangkan tilosin dan lincomisin efektif terhadap bakteri Gram positif. Hasil penelitian ini sejalan dengan laporan Hussein et al. (2017) dan Andrabi (2017) bahwa kombinasi antibiotik GTLS mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen secara lebih optimal.

Lebih lanjut, tingginya kontaminasi bakteri pada perlakuan tanpa antibiotik menegaskan bahwa semen sapi rentan terkontaminasi mikrob jika tidak dilakukan pengendalian yang memadai (Watson, 2015). Deteksi *Mycoplasma* spp., pada perlakuan P1 juga menjadi perhatian, karena dapat bertahan dalam penyimpanan dan berpotensi memengaruhi kesehatan reproduksi sapi betina yang diinseminasi (Bielas et al., 2020). Oleh karena itu, penggunaan kombinasi antibiotik yang lebih luas, seperti GTLS, dapat menjadi strategi yang lebih efektif

untuk menjaga mutu semen, mendukung program inseminasi buatan, dan meningkatkan efisiensi reproduksi pada sapi potong komersial (Puglisi *et al.*, 2021).

Keberadaan Bakteri pada Semen Beku

Pada Tabel 2, disajikan hasil isolasi dan identifikasi bakteri pada semen beku sapi Simental dengan perlakuan antibiotik yang berbeda menunjukkan adanya variasi jenis bakteri yang berhasil ditemukan. Pada kelompok perlakuan tanpa antibiotik (P1), terdeteksi lima jenis bakteri, yaitu *Alcaligenes* spp., *Chromobacterium* spp., *Corynebacterium* spp., *Klebsiella* spp., dan *Micrococcus* spp..

Pada Tabel 2, disajikan bahwa semen yang tidak diperlakukan dengan antibiotik memiliki tingkat kontaminasi bakteri yang relatif tinggi, terutama dari kelompok bakteri patogen oportunistik yang berpotensi menurunkan kualitas semen selama penyimpanan (Aurich, 2018; Hussein *et al.*, 2017). Salah satu contoh adalah *Klebsiella* spp., yang diketahui mampu menghasilkan endotoksin, sehingga merusak membran plasma sperma dan menurunkan motilitas serta viabilitas spermatozoa (Foote, 2016).

Pada perlakuan dengan antibiotik Penicillin-Streptomycin (P2), hanya ditemukan *Alcaligenes* spp., *Haemophilus* spp., dan *Mycoplasma* spp.. Pemberian antibiotik Penicillin-Streptomycin ini cukup efektif dalam menekan beberapa jenis bakteri, meskipun masih terdeteksi *Mycoplasma* spp., yang dikenal dapat melekat pada membran spermatozoa dan memicu penurunan kualitas sperma, termasuk motilitas dan integritas membran (Kakar *et al.*, 2018; Kumar *et al.*, 2020), sedangkan pada perlakuan dengan kombinasi antibiotik GTLS (Gentamisin, Tilosin, Lincomisin, dan Spektinomisin) (P3), isolasi bakteri menunjukkan adanya *Chromobacterium* spp., *Haemophilus* spp., *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., dan *Serratia* spp.. Kombinasi GTLS diketahui memiliki spektrum kerja yang lebih luas terhadap bakteri Gram positif maupun Gram negatif, walau *Proteus* spp., dan *Serratia* spp., masih dapat ditemukan karena kemampuannya beradaptasi pada medium semen dan bertahan pada

kondisi kriopreservasi (Kasima-nickam *et al.*, 2019).

Dalam proses kriopreservasi semen sapi, dilakukan penurunan suhu secara bertahap hingga suhu ekstrem -196°C pada nitrogen cair, keadaan tersebut dapat memicu perubahan osmotik dan pembentukan kristal es yang merusak membran sel sperma. Hal ini berkontribusi pada potensi kontaminasi bakteri jika tidak dilakukan pengendalian dengan antibiotik (Watson, 2015). Penambahan antibiotik dalam pengencer semen memiliki peran penting dalam menghambat pertumbuhan bakteri selama penyimpanan jangka panjang melalui mekanisme penghambatan sintesis protein dan dinding sel bakteri (Puglisi *et al.*, 2021).

Kombinasi GTLS terbukti lebih efektif dibandingkan antibiotik Penicillin-Streptomycin karena memiliki cakupan kerja yang lebih luas, terutama dalam mengendalikan bakteri Gram negatif seperti *Klebsiella* spp., dan *Proteus* spp., yang sering ditemukan pada semen beku (Aurich, 2018). Gentamisin bertindak dengan menghambat sintesis protein di ribosom bakteri, sedangkan Tilosin dan Lincomisin lebih efektif dalam menekan bakteri Gram positif yang dapat menginfeksi saluran reproduksi sapi betina (Kakar *et al.*, 2018).

SIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa dari semen sapi simental teridentifikasi 12 jenis bakteri. Jenis pengencer semen dan variasi antibiotik memengaruhi jumlah dan jenis bakteri pada semen sapi simental, baik semen segar, cair dan beku.. Penambahan antibiotik (Penicillin-Streptomycin) mampu menekan beberapa jenis bakteri, namun belum optimal mengeliminasi *Mycoplasma* spp. Kombinasi antibiotik GTLS efektif menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif dengan jumlah yang lebih terkendali.

SARAN

Hasil penelitian ini merekomendasikan penggunaan kombinasi GTLS pada

pengencer semen sebagai upaya untuk menekan kontaminasi bakteri, menjaga kualitas biologis semen beku, serta meningkatkan keberhasilan inseminasi buatan pada sapi simental. Perlu dilakukan penelitian lanjutan terkait efektivitas GTLS terhadap bakteri lain serta dampaknya terhadap kualitas dan fertilitas sperma. Penggunaan antibiotik juga harus mempertimbangkan risiko resistansi jangka panjang.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada manajemen dan staf UPTD BPTSD Tuah Sakato, Payakumbuh, Sumatra Barat atas bantuan mereka yang tak ternilai dalam proses pengumpulan semen. Kami juga menyampaikan penghargaan kepada Balai Veteriner Bukittinggi, atas penyediaan akses ke fasilitas laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

- Althouse GC, Kuster CE, Clark SG, Wesiger RM. 2015. Field investigations of bacterial contamination of boar semen. *Theriogenology* 83(3): 430–438.
- Andrabi SMH. 2017. Factors affecting the quality of cryopreserved buffalo (*Bubalus bubalis*) bull spermatozoa. *Reproduction in Domestic Animal* 52(S2): 241–251.
- Aurich C. 2018. Bacterial contamination of semen and its impact on semen quality in horses and other species. *Animal Reproduction Science* 194: 1–4.
- Bielanski A, Vajta G. 2009. Risk of contamination of germplasm during cryopreservation and cryobanking in IVF units. *Human Reproduction* 24(10): 2457–2467.
- Bielas W, Klusek J, Gondek M, Pluta K. 2020. *Mycoplasma bovis* infection in cattle-Pathogenesis, diagnosis and control strategies. *Journal of Veterinary Research* 64(3): 321–327.
- Chandrasekaran R, Gopalakrishnan K, Rajendran P. 2021. Microbiological evaluation of bull semen and the impact on sperm quality. *Veterinary World* 14(5): 1238–1244.
- Foote RH. 2002. Factors affecting the quality of semen and artificial insemination success in cattle. *Journal of Animal Science* 80(1): 1–10.
- Foote RH. 2016. Fertility of bull semen: influence of seminal plasma and spermatozoa. *Theriogenology* 85(3): 556–564.
- Goularte KL, Da Silva L, Tonussi RL, Da Silva MR. 2019. Antibiotic resistance in bacterial contaminants from semen of bulls used in artificial insemination programs. *Reproduction in Domestic Animal* 54(4): 722–728.
- Hussein HA, Ali HM, El-Nattat WS. 2017. Bacterial load and semen quality of Egyptian buffalo bulls treated with different antibiotics during storage. *Asian Pacific Journal of Reproduction* 6(3): 109–114.
- Islam R, Kumar H, Narayan P. 2020. Microbiological quality of bovine semen and its impact on fertility: A review. *Agricultural Review* 41(3): 250–254.
- Kakar S, Singh LP, Kaur R, Ghuman SPS. 2018. *Mycoplasma* infections in bovine reproduction: Impacts and management strategies. *Veterinary World* 11(9): 1307–1313.
- Kasimanickam R, Kasimanickam VR, Olsen JR. 2019. Effect of extender and antibiotic combinations on semen quality of Holstein bulls during storage. *Animal Reproduction Science* 203: 1–7.
- Kastelic JP, Thundathil JC. 2016. Breeding soundness evaluation and semen analysis for predicting bull fertility. *Reproduction in Domestic Animals* 51(Suppl 1): 20–25.
- Kumar P, Singh VK, Yadav S, Yadav PS. 2020. Bacterial contamination and its impact on bovine semen quality. *Animal Reproduction Science* 215: 106328.
- Puglisi R, Chieppa MN, Scioscia M, Montemurro G. 2021. Recent advances on the role of microbiota in male fertility

- and the use of antibiotics in semen extenders: A review. *Frontier in Veterinary Science* 8: 642441.
- Rabusin M, Andriani, Arifiantini RI, Karja, NWK. 2019. Identifikasi bakteri dan efektivitas antibiotik dalam pengencer untuk mengontrol pertumbuhan bakteri pada semen sapi Friesian holstein. *Jurnal Veteriner* 20(1): 140-147.
- Singh RK, Sharma A, Kumar P, Singh AK, Kumar R. 2018. Evaluation of microbiological quality of bovine semen at different stages of cryopreservation. *Indian Journal of Animal Research* 52(8): 1131–1135.
- Sitepu SA, Marisa J. 2020. Pengaruh Penambahan Gentamisin dan Minyak Atsiri Jeruk Manis Terhadap Persentase Hidup Spermatozoa pada Pengencer Semen Beku Sapi *Prosiding*. Simmental. Seminar Nasional Ilmu Peternakan Terapan. Politeknik Negeri Jember. Jember 19 November 2020. Hlm.82–86.
- Thibier M, Guerin B. 2000. Bacteriological and sanitary aspects of artificial insemination in livestock. *Bulletin de l'Office internationale des epizooties* 112(6): 105–117.
- Watson PF. 2015. The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Animal Reproduction Science* 138(1–2): 9–15.