

Kualitas Semen Beku Sapi Limousin BIB Tuah Sakato yang Disimpan di Pusat Pembibitan Ternak Sapi Arian dengan Waktu Thawing yang Berbeda

Quality Of Frozen Cow Limousine BIB Tuah Sakato Cement Stored In Arian Cattle Breeding Center With Different Thawing Times

John Hendri¹, Harissatria¹, Syafrizal² dan Rafi Suryade Putra¹

Program Studi Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Mahaputra Muhammad Yamin

Program Studi Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Taman Siswa

Kampus I, Jl. Jenderal Sudirman No. 6, Kota Solok. Telp (0755) 20565

¹e-mail : johnhendri@gmail.com

ABSTRACT

The purpose of this study was to determine the effect of thawing time on the quality of frozen semen of Limousin cattle. This study used an experimental method with a completely randomized design (CRD) with 4 treatments, namely thawing time of 0 seconds, 30 seconds, 60 seconds and 90 seconds at 38°C and 4 replications. The material in this study was frozen semen of 16 straws of Limousin cattle with the same stud code. This research was conducted at the Laboratory of Animal Biotechnology, Andalas University, Padang. From the results of the study, it can be seen that the thawing time of 0 seconds, 30 seconds, 60 seconds and 90 seconds gave a very significant difference ($P < 0.01$) for the percentage of life, percentage of motility and percentage of abnormalities that were thawed at 38°C. It was concluded that the effect of thawing time of 0 seconds was high on the percentage of motility, percentage of survival and percentage of abnormalities for thawing that could cause spermatozoa (cold shock) or damage.

Keywords : cement, thawing time, temperature, motility, abnormalities

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh waktu *thawing* terhadap kualitas semen beku sapi Limousin. Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan yaitu lama *thawing* 0 detik, 30 detik, 60 detik dan 90 detik pada suhu 38°C dan 4 ulangan. Materi dalam penelitian ini adalah semen beku sapi Limousin sebanyak 16 straw dengan kode pejantan yang sama. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Ternak Universitas Andalas Padang. Dari hasil penelitian dapat diketahui bahwa lama *thawing* 0 detik, 30 detik, 60 detik dan 90 detik memberikan pengaruh berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) bagi persentase hidup, persentase motilitas dan persentase abnormalitas yang di *thawing* pada suhu 38°C. Disimpulkan bahwa pengaruh waktu *thawing* 0 detik mendapat hasil tinggi terhadap persentase motilitas, persentase hidup dan persentase abnormalitas untuk pelaksanaan *thawing* yang dapat menyebabkan spermatozoa (*cold shock*) atau rusak.

Kata kunci : semen, thawing waktu, suhu, motilitas, abnormalitas

PENDAHULUAN

Pelaksana IB mempunyai peran besar dalam keberhasilan IB, karena prosedur pelaksanaan IB mulai dari pengamatan birahi, handling semen beku, *thawing* semen beku sampai dengan pelaksanaan inseminasi sangat mempengaruhi keberhasilan perkawinan, (Rizal, 2003).

Teknologi inseminasi buatan diharapkan mampu mengoptimalkan penggunaan semen karena semen dari seekor

pejantan yang unggul dapat digunakan untuk membuahi sel telur pada banyak betina. Inseminasi buatan merupakan salah satu cara meningkatkan efisiensi reproduksi (Hafez, 2000). Namun dalam proses pembekuan dan pencairan semen beku yang tidak baik, dapat menyebabkan kerusakan spermatozoa sehingga menyebabkan kualitas dan daya fertilitas menurun, oleh karena itulah spermatozoa harus tetap terjaga kualitasnya agar dapat menembus sel telur sehingga fertilisasi dapat terjadi. Metode *thawing* semen beku menjadi salah satu

faktor yang sangat menentukan program IB karena thawing semen beku merupakan prosedur yang paling penting dalam IB jika menggunakan metode thawing yang salah akan mempengaruhi kualitas spermatozoa yang akan berdampak pada hasil IB.

Metode thawing di Indonesia sangat beragam, untuk menghasilkan kualitas semen yang baik Direktorat Jenderal Peternakan membuat standarisasi metode thawing yaitu penggunaan air suhu 37⁰C selama 30 detik karena pada suhu ini sama dengan suhu fisiologis ternak dan sesuai Standar Operasional Pekerjaan (SOP) Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB). Namun, faktor kemudahan pelaksanaan menjadi pertimbangan bagi inseminator dalam pelaksanaan thawing.

Keberagaman metode thawing semen beku, mulai dari waktu dan suhu thawing yang dilakukan oleh inseminator juga terjadi di daerah Kecamatan X Koto Singkarak yaitu belum memperhatikan waktu dan suhu pada saat thawing. Biasanya Inseminator hanya mengkisarkan waktu pada suhu tertentu pada saat thawing. Hal ini merupakan penyebab rusaknya semen beku yang mengakibatkan kegagalan pada saat IB. Perubahan temperatur lingkungan akan mempengaruhi daya hidup spermatozoa, temperatur terlalu tinggi akan merusak pertumbuhan dan kemampuan spermatozoa untuk membuahi (Zelpina *et al.*, 2012). Selanjutnya pola distribusi yang panjang mulai dari BIB sampai ke inseminator dapat menyebabkan penurunan kualitas semen beku (Situmorang, 2003). Selain dari pola distribusi, penurunan kualitas semen juga dapat dipengaruhi oleh penanganan atau handling semen beku, suhu lingkungan serta lama penyimpanan semen beku (Hidayatin, 2002). Bervariasinya waktu dan durasi serta kualitas semen beku post thawing, menunjukkan keberagaman pula metode thawing yang dilakukan oleh beberapa inseminator dilapangan sehingga hasil inseminasi semen beku yang beragam pula disetiap daerah.

Dengan uraian diatas, sama halnya dengan semen beku yang di simpan di PKH Peternakan (UPTD Pusat Pembibitan Ternak Sapi Aripan) yang masih beragam penanganan waktu thawing yang dilakukan Inseminator, maka kualitas dari semen beku sebelum di IB juga beragam, maka dari itu, perlu dilakukan penelitian ini.

MATERI DAN METODE

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah semen beku sapi Limousin Produksi BIB Tuah Sakato Kota Payakumbuh yang disimpan di PKH Peternakan (UPT Pembibitan Aripan) dengan kode pejantan seragam sebanyak 16 buah straw. Semen beku dimasukkan dalam kontainer 5 liter yang berisi nitrogen cair dan selanjutnya dibawa ke Laboratorium Bioteknologi Ternak Universitas Andalas Padang untuk dilakukan pengujian kualitas semen beku. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari, aquabidestilata pro injectionem 500 ml, eosin microscopy 2%, sodium chloride 500 ml dan NaCl 3 %. Sedangkan peralatan yang digunakan adalah termometer, mikroskop electron ziss, cover glass 0,13-0,17 mm steril, objek glass 1-1,2 mm steril, hemocytometer 0,0025 mm², petridish 6 cm x 15 mm, mikropipet P 1000, gunting stainless, pinset stainless, test tube iwaki pyrex 10 ml, bunsen dan stopwatch.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen di Laboratorium dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan waktu thawing sebagai perlakuan yaitu P0 (0 detik), P1 (30 detik), P2 (60 detik) dan P3 (90 detik) dan 4 kali ulangan. Bila F hitung lebih besar dari F tabel 5%, maka analisis dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan's New Multiple Range Test (Steel and Torrie, 1995).

Prosedur penelitian yaitu semen beku sapi limousin dalam bentuk straw 0,25 ml yang diperoleh dari PKH Peternakan (UPT Pembibitan Aripan) dibawa ke Laboratorium

Bioteknologi Ternak Universitas Andalas Padang menggunakan kontainer 5 liter yang berisi N₂ Cair. Straw semen beku kemudian dibagi menjadi 4 perlakuan waktu thawing, yakni 4 straw dithawing dalam air 38°C selama 0 detik, 4 straw di thawing dalam air 38°C selama 30 detik, 4 straw di thawing dalam air 38°C selama 60 detik dan 4 straw lainnya di thawing dalam air 38°C selama 90 detik.

Selanjutnya masing-masing straw dan perlakuan dilakukan pemeriksaan kualitas mikroskopis dengan cara mengambil beberapa tetes semen dengan pipet tetes, diteteskan di atas gelas objek kemudian ditambah dengan satu tetes eosin 2% dan dibuat preparat dan diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 100 x yang terkoneksi kepada komputer.

Penghitungan persentase hidup spermatozoa dilakukan dengan cara menghitung spermatozoa yang tidak menyerap zat warna dalam satu bidang pandang di bagi 200 x 100%.

Pengamatan motilitas dilakukan dan dilihat dibawah mikroskop berdasarkan gerakan spermatozoa yang hidup dan bergerak maju/progresif. Data diperoleh dengan cara meneteskan sampel semen pada kamar hitung kemudian ditutup dengan cover glass lalu diamati di bawah mikroskop dengan perhitungan sebagai berikut : 90% : Bergerak sangat aktif atau cepat, gelombang besar dan bergerak cepat; 70-85% : Bergerak aktif/cepat, ada gelombang besar dengan gerakan massa yang cepat; 40-65% : Bergerak agak aktif/agak

cepat, terlihat gelombang tipis dan jarang serta gerakan massa yang lambat; 20-30% : Bergerak kurang aktif/ kurang cepat, tidak terlihat gelombang, hanya gerakan individual sperma; 10% : Gerakan individual sperma (sedikit sekali gerakan individual sperma atau tidak ada gerakan sama sekali (mati).

Pengamatan abnormalitas spermatozoa dilakukan dengan cara meneteskan satu tetes semen di atas gelas obyek, dan tambahkan beberapa tetes eosin 2% kemudian di buat preparat selanjutnya semen disebar, kemudian difiksasi, setelah itu diangin-anginkan dengan menggunakan api bunsen supaya mempercepat pengeringan. Setelah kering dilakukan pengamatan abnormalitas spermatozoa. Abnormalitas yang dihitung adalah abnormalitas kepala terlalu besar, kepala terlalu kecil, kepala ganda (*duplicate head*), ekor melingkar dan ekor ganda. Sesuai dengan pengamatan mikroskopis spermatozoa di prosedur penelitian tersebut maka parameter yang di ukur dalam penelitian ini adalah : persentase hidup, motilitas dan abnormalitas.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh waktu thawing yang berbeda terhadap kualitas semen beku sapi Brahman cross yang disimpan di Pusat Pembibitan Sapi Arian Kabupaten Solok dapat dilihat pada Tabel 1 berikut.

Tabel 1. Pengaruh waktu thawing yang berbeda terhadap kualitas semen beku sapi Brahman cross yang disimpan di Pusat Pembibitan Sapi Arian

Peubah	Perlakuan			
	P0	P1	P2	P3
Persentase hidup (%)	27,00 b	70,75 a	56,50 a	72,87 a
Motilitas (%)	3,62 c	28,75 a	17,50 b	26,78 a
Abnormalitas (%)	1,50 a	0,25 b	0,12 b	0,50 b

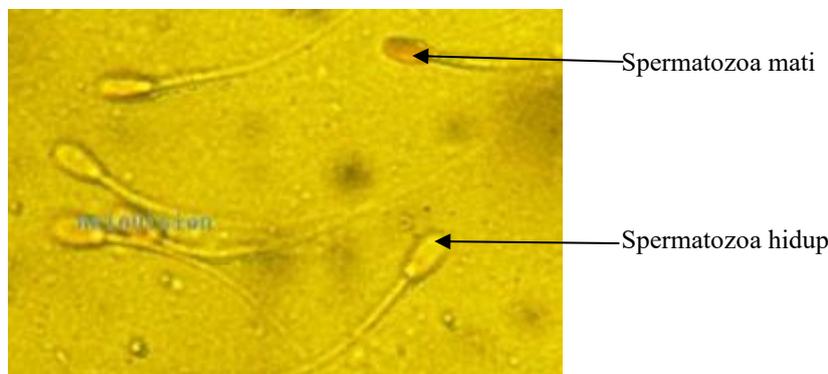
Keterangan : huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan sangat nyata (P< 0,01)

Dari Tabel 1 terlihat bahwa waktu thawing semen beku sapi Brahman cross yang berbeda menghasilkan perbedaan sangat nyata terhadap semua peubah yang diukur.

Persentase Hidup

Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa semen beku yang di thawing thawing pada waktu 0 detik, 30 detik, 60 detik dan 90 detik pada suhu 38°C menunjukkan pengaruh berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap waktu thawing yang berbeda. Berbeda sangat nyatanya persentase hidup semen beku disebabkan karena lama waktu thawing semen beku yang berbeda yaitu 0 detik, 30 detik, 60

detik, dan 90 detik. Lamanya waktu proses thawing dapat mempengaruhi persentase hidup dari spermatozoa yang dibekukan setelah terjadinya proses thawing pada semen beku. Penglihatan melalui mikroskop persentase hidup spermatozoa dengan menggunakan eosin, eosin adalah zat warna khusus untuk spermatozoa, pewarnaan dasar untuk memudahkan melihat perbedaan antara spermatozoa yang berwarna dan tidak berwarna. Untuk lebih jelasnya perbedaan spermatozoa hidup dan mati yang didapatkan dari hasil penelitian dapat dilihat pada Gambar 1 berikut ini.



Gambar 1. Spermatozoa mati dan spermatozoa hidup

Prinsip metode pewarnaan eosin adalah terjadinya penyerapan zat warna eosin pada spermatozoa yang mati pada saat pewarnaan tersebut dilakukan (Bearden dan Fuquay, 1984; Toelihere, 1993; Partodihardjo, 1982). Hasil penelitian ini masih bisa digunakan dalam kegiatan IB, kecuali pada waktu 0 detik, persentase hidup dari spermatozoa sangat rendah dan akan menyebabkan kegagalan pada proses IB. Menurut Hafez (2008) bahwa viabilitas normal semen segar sapi sebesar 60-80% dan suhu yang optimum adalah 37-38°C.

Motilitas

Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa semen beku yang di thawing thawing pada waktu 0 detik, 30 detik, 60 detik dan 90 detik pada suhu 38°C menunjukkan pengaruh berbeda sangat nyata ($P < 0,01$). Berbeda sangat

nyatanya persentase motilitas semen beku disebabkan karena pada waktu 30 detik dengan suhu 38°C merupakan waktu yang paling cocok atau ideal bagi kehidupan semen beku setelah di thawing. Pada waktu 30 detik dengan suhu thawing 38°C yang digunakan pada penelitian ini sesuai dengan suhu ideal bagi aktivitas spermatozoa, sehingga sperma motil terlihat lebih tinggi persentasenya. Selanjut nya, pada waktu 30 detik dengan suhu 38°C berguna untuk mencegah *cold shock* (kejutan dingin) dan motilitas pada sapi akan meningkat pada suhu 38°C (Toelihere, 1993).

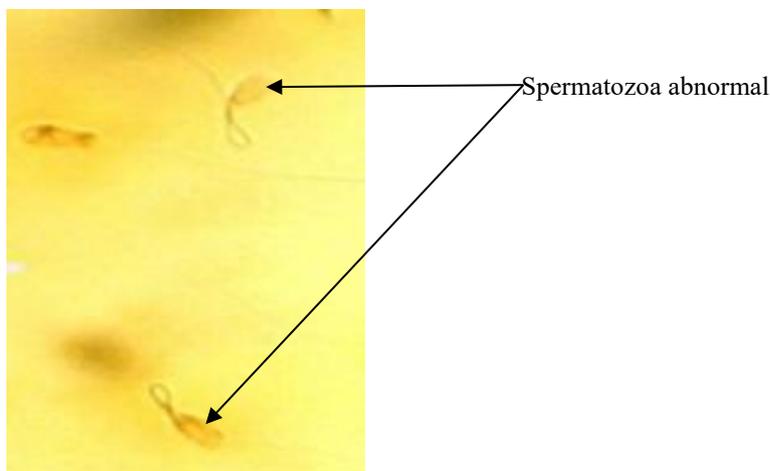
Lamanya waktu proses thawing dapat mempengaruhi persentase motilitas dari spermatozoa yang dibekukan setelah terjadinya proses thawing pada semen beku. Dengan lamanya waktu thawing akan meningkatkan tekanan spermatozoa dan melewati masa tidak

stabil (kritis) dengan cepat sehingga spermatozoa hidup dan normal lebih banyak. Lama thawing mempunyai pengaruh besar terhadap keadaan spermatozoa khususnya keutuhan spermatozoa dalam semen. Kombinasi lama thawing yang baik adalah yang mengakibatkan sedikit kerusakan spermatozoa, sehingga tetap memiliki kemampuan membuahi ovum yang tinggi (Handiwirawan *et al.*, 1997).

Abnormalitas

Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa semen beku yang di thawing thawing pada waktu 0 detik, 30 detik, 60 detik dan 90 detik pada suhu 38°C menunjukkan pengaruh berbeda sangat nyata ($P < 0,01$). Berbeda sangat nyata persentase abnormalitas semen beku disebabkan karena lama waktu thawing semen beku yang berbeda. Tingkat persentase abnormalitas tertinggi terletak pada perlakuan suhu 38°C dengan lama thawing 0 detik dengan rata-rata 1,5%, sedangkan abnormalitas paling rendah diperoleh pada perlakuan dengan suhu

38°C dengan lama thawing 60 detik. Hal ini sesuai dengan pendapat Arifiantini dan Purwantara (2010) bahwa pengeringan yang terlalu cepat dan dipanaskan dengan temperatur tinggi dapat mempengaruhi persentase abnormalitas spermatozoa. Abnormalitas tertinggi dalam penelitian ini menunjukkan rata-rata 1,5%, sehingga masih dapat dipergunakan untuk keperluan inseminasi buatan. Standar Nasional Indonesia (SNI) mensyaratkan bahwa semen sapi memiliki morfologi abnormalitas baik primer maupun sekunder $< 20\%$ (BSN, 2005). Pernyataan serupa juga dinyatakan oleh Balls dan Peters (2004) dimana seekor pejantan tidak akan memiliki fertilitas yang tinggi apabila ditemukan spermatozoa abnormalitas sebesar $> 17\%$. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Makhzoomi *et al.*, (2007) tentang abnormalitas juga menyebutkan bahwa tingkat abnormalitas primer spermatozoa $< 10\%$ dapat berpengaruh terhadap fertilitas. Bentuk spermatozoa abnormalitas dalam penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 2 dibawah ini.



Gambar 2. Spermatozoa abnormal

SIMPULAN

Hasil penelitian menyimpulkan bahwa kualitas spermatozoa semen beku sapi Limousin yang di thawing pada waktu 30 detik, 60 detik dan 90 detik pada suhu 38°C tidak

memberikan pengaruh terhadap persentase hidup dan persentase abnormalitas. Hasil akan buruk (rendah) jika melakukan thawing dengan suhu 38°C pada waktu thawing 0 detik, hal ini sama saja melakukan thawing tanpa perlakuan pada semen beku tersebut yang akan mengakibatkan semen beku rusak (*cold shock*).

DAFTAR PUSTAKA

- Arifiantini, R. I., dan B. Purwantara. 2010. Motility and viability of Friesian Holstein spermatozoa in three different extender stored at 5 °C. *Jurnal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*. 35(4).
- Ball, P. J. H., and Peters, A. R. 2004. *Reproduction in Cattle*. 3rd ed. UK: Blackwell Publishing.
- Bearden, H. J., and J. W. Fuquay. 1984. *Applied Animal Reproduction*. 2nd edition.
- Hafez, E. S. E. 2008. *Anatomy of Female Reproduction*. Ed pp. 29-55.
- Hafez, E. S. E. 2000. *Preservation and Cryopreservation of Gamet Embryo*. In: *Reproduction in Farm Animal*. 7th ed. Lea & Febinger. Philadelphia. 165-168.
- Handiwirawan dan Z Fitri.. 1997. *Penggunaan Air Kelapa sebagai Penyeimbang Fruktosa dalam Pengencer terhadap Kualitas Sperma Sapi Simmental*. Skripsi. Medan, Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara.
- Hidayatin, D. 2002. *Kaji Banding Kualitas Semen Beku Produk BIB Lembang dan Singosari pada Setiap Jalur Distribusi*. Skripsi. Bogor, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor.
- Makhzoomi, A., Lundeheim, N, Haard, M, and Rodrigue-Martinez, H. 2007. Sperm morphology and fertility of progeny-tested AI Swedish dairy bull. *J. of Anim and Vet. Advances*. 8: 975-980.
- Partodihardjo, S. 1992. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Cetakan Ketiga. Jakarta, Mutiara Sumber Widya.
- Rizal. M, M.R. Toelihere, T.L. Yusuf, B. Purwantara dan P. Situmorang. 2003. Karakteristik penampilan reproduksi pejantan domba Garut. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*. 8(2): 134 - 140.
- Situmorang, P. 2003. Pengaruh penambahan eksogenous phospholipid ke dalam pengencer tris dengan tingkat kuning telur yang berbeda pada daya hidup spermatozoa sapi.
- Steel, C. J., dan J. H. Torrie. 1995. *Prinsip dan Prosedur Statistik*. Jakarta, PT. Gramedia.
- Toelihere, M. R., 1993. *Inseminasi Buatan pada Ternak*. Cetakan Ke-3. Bandung, Angkasa.
- Zelpina. E., Bayu, R, dan Teguh, S. 2012. Kualitas spermatozoa post thawing dari semen beku sapi perah. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan* .15(2): 95-102.