
**PENGARUH LAMA *THAWING* DAN *POST THAWING* DENGAN
AIR HANGAT (37°C) TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA
SAPI PERANAKAN ONGOLE
*EFFECT OF THAWING AND POST THAWING DURATION WITH
WARM WATER (37 °C) ON THE QUALITY OF ONGOLE
CROSSBREED CATTLE SPERMATOZOA***

Muadz Abdurrahman, Dadang Mulyadi Saleh, dan Imbang Haryoko
Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto

Email: muadz.abdur@gmail.com

Abstrak

Penelitian ini bertujuan mengkaji pengaruh lama *thawing* dan *post thawing* menggunakan air hangat (37°C) terhadap kualitas spermatozoa sapi Peranakan Ongole. Materi yang digunakan adalah *straw* sapi Peranakan Ongole dari Dinas Perikanan dan Peternakan Banyumas Jawa Tengah sebanyak 27 buah. Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial 3x3 dengan tiga kali ulangan dengan peubah yaitu motilitas, viabilitas dan abnormalitas dari spermatozoa *straw* sapi Peranakan Ongole pada lama *thawing* dan lama *post thawing* yang berbeda-beda. Hasil penelitian menunjukkan tidak ada pengaruh interaksi lama *thawing* dan *post thawing* ($P>0.05$) terhadap motilitas, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa, namun terdapat pengaruh ($P<0,05$) dari lama *post thawing* terhadap motilitas ($P_3= 39,01\%$) dan pengaruh ($P<0,05$) lama *thawing* terhadap viabilitas ($T_3= 50,65\%$). Hasil analisis variansi dilakukan uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ). Perlakuan terbaik untuk motilitas adalah lama *post thawing* 30 menit ($P_1= 51,19\%$) dan viabilitas adalah lama *thawing* 15 detik ($T_1= 57,27\%$) dengan abnormalitas masih dibawah ambang batas yaitu rata-rata antar 12,64% sampai dengan 14,01%. Disarankan lama *thawing* dan *post thawing* menggunakan metode T3P1 (45 detik dan 30 menit) untuk diperoleh kualitas spermatozoa (berdasarkan motilitas) yang masih layak untuk dilakukan inseminasi buatan.

Kata kunci: *thawing*, *post thawing*, motilitas, viabilitas, abnormalitas

Abstract

This research aimed to examine the effect of the duration of thawing and post thawing using warm water (37°C) on the quality of the spermatozoa of Ongole Crossbreed cattle. The material used was 27 Ongole Crossbreed cattle straw from the Department of Fisheries and Animal Husbandry Banyumas. The research method used was an experimental method with a completely randomized design (CRD) factorial 3x3 pattern with three replications, variables observed namely motility, viability and abnormalities of the Ongole Crossbreed cattle spermatozoa in the different thawing and post thawing periods. The results showed that there were no interaction effects between thawing and post thawing duration ($P> 0.05$) on motility, viability and abnormalities of spermatozoa, but there was an effect ($P <0.05$) on post thawing duration on motility ($P_3 = 39.01\%$) and effect ($P <0.05$) on thawing duration on viability ($T_3 = 50.65\%$). The results of the analysis of variance carried out further Honest Significant Difference (HSD). The best treatment for motility is 30 minutes post-thawing ($P_1 = 51.19\%$) and viability is 15 seconds

duration thawing (T1 = 57.27%) with abnormalities still below the threshold range between 12.64% and 14, 01%. Recommended that the duration of thawing and post thawing use the T3P1 method (45 seconds and 30 minutes) to obtain the good quality of the sperm (based on motility) that is still suitable for artificial insemination.

Keywords: thawing, post thawing, motility, viability, abnormalities

PENDAHULUAN

Teknologi reproduksi yang dimanfaatkan di lapangan salah satunya adalah inseminasi buatan (IB) yang merupakan generasi pertama dalam bioteknologi reproduksi ternak di Indonesia dan telah di aplikasikan sejak tahun 1956 (Kasehung dkk., 2016). Pelaksanaan IB yang baik menjadi upaya dalam peningkatan produktivitas ternak dengan perbaikan mutu genetik ternak. Kesuburan betina merupakan salah satu faktor penentu keberhasilan inseminasi buatan, sedangkan faktor lain yaitu deteksi birahi, ketepatan waktu IB, keterampilan inseminator dalam IB, *handling* (penanganan) semen serta kualitas dari semen (Annashru dkk., 2017). Herawati dkk (2012) menambahkan pencairan kembali (*thawing*) yang benar juga akan mempengaruhi keberhasilan dari pelaksanaan IB.

Berdasarkan kegiatan IB di wilayah Banyumas ditemukan data bahwa terdapat inseminator yang menggunakan metode yang berbeda dari metode yang terdapat di SNI baik metode *thawing* maupun metode *post thawing*. Perbedaan metode inilah yang menjadi salah satu faktor kegagalan inseminasi buatan dilapangan. Kendala yang sering dihadapi pada IB antara lain motilitas yang rendah dan viabilitas serta Abnormalitas spermatozoa yang tinggi, sehingga perlu adanya perbaikan dan penanganan khusus pada kualitas semen. Penanganan khusus tersebut salah satunya yaitu metode *thawing* dan *post thawing*. Kristal es dan kehilangan energi saat proses *thawing* dan *post thawing* menjadi salah satu yang mempengaruhi keberhasilan IB dengan metode *thawing* dan *post thawing*. Proses pembekuan spermatozoa ini menimbulkan masalah yaitu terbentuknya kristal-kristal es akibat proses pengeluaran air secara intraseluler dan *cold shock* atau stress terhadap cekaman dingin (Apriyanti, 2012). Variasi dari lama *thawing* dan *post thawing* tentunya akan mempengaruhi kualitas spermatozoa sapi PO sehingga akan berdampak pada keberhasilan IB dan program UPSUS SIWAB yang sedang berjalan. Hal inilah yang menjadi latar belakang untuk mengetahui perbandingan kualitas spermatozoanya dan dapat menjadi salah satu acuan IB.

MATERI DAN METODE

Materi yang digunakan dalam penelitian yaitu semen beku sapi Peranakan Ongole (PO) dalam *straw* 0,25 cc sebanyak 27 dosis, diperoleh dari Dinas Perikanan dan Peternakan Purwokerto, larutan *Eosin-Negrosin* 50 ml, nitrogen cair 4 liter, *Eosin B*, *Negrosin*, natrium sitrat 3% dan aquabidestillata 100 ml dan air hangat 37°C. Peralatan yang digunakan yaitu *container* 3 liter, seperangkat alat mikroskop, kertas label, tisu, thermometer, 27 pasang *object glass* dan *cover glass*, 1 buah erlenmeyer, 1 buah gelas ukur, 1 buah pengaduk, dan 6 buah pipet 1 ml.

Metode penelitian yang digunakan yaitu metode eksperimental dengan rancangan percobaan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan pola factorial. Kombinasi perlakuan antara lama *thawing* dan lama *post thawing*. Total perlakuan yaitu 9 perlakuan dengan 3 kali ulangan. Peubah yang diukur merupakan motilitas, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa *straw* sapi Peranakan Ongole dengan menggunakan lama *thawing* dan *post thawing* yang berbeda-beda.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Nilai rata-rata pengamatan motilitas spermatozoa dengan 10 lapang pandang yaitu sebagaimana tersaji pada Tabel 1 dengan rata-rata tertinggi 51,19% pada pengaruh lama *post thawing*. Hasil data analisis variansi menunjukkan bahwa lama *post thawing* berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap motilitas spermatozoa semen beku sapi Peranakan Ongole (PO) (Lampiran 3). Data hasil pengamatan menunjukkan perbedaan waktu *post thawing* semen beku berpengaruh nyata. Data uji lanjut BNJ (Lampiran 3) menunjukkan bahwa semen beku dengan *post thawing* selama 30 menit lebih baik dari pada semen beku dengan *post thawing* 60 menit, semen beku dengan *post thawing* 60 menit lebih baik daripada semen beku dengan *post thawing* 90 menit.

Persentase pergerakan spermatozoa merupakan salah satu patokan dalam menilai semen untuk inseminasi buatan, namun penilaian mikroskopik terhadap motilitas spermatozoa bersifat subyektif (Toelihere, 1993a). Syarat spermatozoa untuk standar inseminasi buatan adalah $2,5 \times 10^6$ spermatozoa per *straw* dengan motilitas *post thawing* sebesar 40% (SNI, 2017). Hasil data pengamatan menunjukkan bahwa motilitas spermatozoa sapi Peranakan Ongole yang diberikan perlakuan P3 (39,01%) berada dibawah standar. Garner and Hafez (2008) menyatakan bahwa motilitas individu spermatozoa *post thawing* agar dapat digunakan untuk inseminasi buatan yaitu minimal 40%. Motilitas individu yang terbaik yaitu pergerakan progresif spermatozoa atau gerakan aktif maju ke depan. Tanda-tanda *cold shock* atau media yang tidak isotonic dengan semen menyebabkan gerakan melingkar dan gerakan. Spermatozoa apabila telah berhenti bergerak maka dianggap telah mati (Feradis, 2010).

Tabel 1. Hasil pengamatan motilitas spermatozoa (%)

	P1	P2	P3	Rataan
T1	48,36	45,69	41,53	45,19
T2	52,03	47,78	37,08	45,63
T3	53,19	47,97	38,42	46,53
Rataan	51,19	47,15	39,01	

Nilai rata-rata pengamatan viabilitas tersaji pada Tabel 2 yaitu lama *thawing* pada T1 memiliki rata-rata tertinggi 57,27%. Hasil analisis variansi menunjukkan bahwa lama *thawing* berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap rata-rata persentase viabilitas spermatozoa semen beku sapi Peranakan Ongole, sedangkan lama *post thawing* berpengaruh tidak nyata terhadap rata-rata persentase viabilitas spermatozoa. Uji

lanjut BNJ menunjukkan bahwa perlakuan T1 memperlihatkan persentase viabilitas yang lebih tinggi (57,27%) dibandingkan dengan perlakuan T2 dan T3 berbeda tidak nyata ($P>0,05$). Penurunan angka persentase viabilitas sesuai dengan lama *thawing* yang dilakukan pada semen beku. Hal ini sebagaimana Salim dkk (2012), melaporkan bahwa persentase viabilitas spermatozoa pada semen beku sapi Bali, Madura dan Peranakan Ongole mengalami penurunan setelah *thawing* yang durasinya semakin panjang.

Tabel 2. Hasil pengamatan viabilitas *spermatozoa* (%)

	P1	P2	P3	Rataan
T1	57,57	58,03	56,21	57,27
T2	55,07	55,46	54,12	54,88
T3	51,97	50,00	49,98	50,65
Rataan	54,87	54,50	53,44	

Berdasarkan hasil uji nilai viabilitas terbaik yaitu pada perlakuan T1 dengan lama *thawing* 15 detik dan suhu 37°C pada semen beku sapi Peranakan Ongole sedangkan T2 dan T3 masih lebih rendah. Hal ini disebabkan T1 belum menyebabkan adanya tekanan osmotik ekstrim pada membran spermatozoa yang dapat merusak dan mengganggu permiabilitas membran tersebut. Oyeyemi dkk. (2000) menyatakan permeabilitas fosfolipid hidrofilik akan rusak dan terganggu fluiditasnya apabila terjadi perubahan suhu ekstrim secara ekstraseluler yang menyebabkan spermatozoa mati. Viabilitas spermatozoa semen beku lebih sedikit dibandingkan dengan semen segar. Hal ini disebabkan suhu yang sangat rendah pada saat pembekuan menyebabkan substansi vital sperma mengalami kebocoran dan menyebabkan berkurangnya enzim intraseluler lipoprotein, ATP serta kalium intraseluler membran plasma rusak dan menurunkan nilai viabilitas (Mahesa, 2016). Penurunan viabilitas pada pengamatan masih tergolong normal kerna kualitas sperma sesudah pembekuan sekitar 50% sperma mati dan sperma yang hidup memiliki fertilitas yang rendah. Spermatozoa hidup memiliki persentase yang lebih tinggi dibandingkan dengan spermatozoa mati maka dianggap masih normal (Bearden dan Fuaquay, 2004).

Persentase viabilitas yang menurun juga kemungkinan disebabkan oleh beberapa hal antara lain *cold shock* karena perubahan suhu secara drastis. Sayoko dkk. (2007) menyatakan bahwa selama *thawing* apabila perubahan suhu terjadi cepat akan mengurangi tekanan pada spermatozoa, sehingga membantu untuk melewati fase kritis dengan cepat dan mempertahankan spermatozoa hidup dan normal lebih banyak. Proses pewarnaan dengan *eosin* pada dasarnya adalah spermatozoa hidup tidak atau sedikit menyerap zat warna dan spermatozoa mati akan menyerap zat warna akibat membrannya tidak permiabel terhadap zat warna sehingga spermatozoa yang berwarna mati (Toelihere 1993a). Pareira dkk. (2010) menyatakan spermatozoa mati akan menyerap warna, sedangkan spermatozoa hidup tidak menyerap warna.

Nilai rata-rata pengamatan abnormalitas spermatozoa pada Tabel 3 menunjukkan bahwa rata-rata abnormalitas masih berada di bawah batas terima dari SNI. Hasil analisis variansi nilai rata-rata abnormalitas spermatozoa pada *thawing* dan *post thawing* yang berbeda diperoleh rata-rata antara 12,64% sampai dengan 14,01%. Hal ini menunjukkan bahwa semua perlakuan memiliki nilai abnormalitas di bawah 20% atau persentase normalitasnya di atas 80%. Hasil analisis variansi menunjukkan bahwa semua perlakuan berpengaruh tidak nyata ($P > 0,05$) terhadap nilai abnormalitas spermatozoa.

Tabel 3. Hasil pengamatan abnormalitas spermatozoa (%)

	P1	P2	P3	Rataan
T1	13,03	13,44	11,44	12,64
T2	14,26	14,56	13,22	14,01
T3	11,64	13,11	13,89	12,88
Rataan	12,98	13,70	12,85	

Hal ini sesuai SNI semen beku Nasional (2017) bahwa semen masih layak untuk digunakan inseminasi buatan (IB) jika abnormalitas di bawah 20%. Toelihar (1993b) menyatakan bahwa spermatozoa yang tidak lebih dari 20% masih dikatakan layak untuk digunakan pada inseminasi buatan. Hal ini menunjukkan lama *thawing* dan *post thawing* pada semua perlakuan tidak menyebabkan abnormal yang tinggi pada spermatozoa. Abnormalitas spermatozoa dikategorikan pada abnormalitas primer, sekunder dan tersier. Abnormalitas primer yaitu akibat kegagalan pada proses spermatogenesis dalam testis sedangkan abnormalitas sekunder akibat kegagalan pada saat perjalanan spermatozoa menuju epididimis. (Mahesa, 2016). Hafez (2000) menambahkan bahwa proses ejakulasi dan penanganan setelah ejakulasi serta sebelum IB dapat menyebabkan kerusakan spermatozoa yang tergolong abnormalitas tersier.

Abnormalitas spermatozoa tersier memiliki ciri yang mirip dengan abnormalitas sekunder seperti ekor atau kepala yang terpisah atau patah, namun pada abnormalitas tersier terjadi akibat proses perparasi saat pengamatan salah satunya pembuatan preparat ulas (Salim dkk., 2012). Yulnawati dkk. (2009) menambahkan bahwa pembuatan preparat ulas dapat menyebabkan kepala atau ekor spermatozoa terputus dan tergolong abnormalitas tersier. *Cold shock* yang dialami oleh spermatozoa dapat menyebabkan abnormalitas dengan ciri ekor dan bagian tubuhnya menjadi melingkari bagian kepala (Salisbury dan Van Demark, 1985).

Spermatozoa yang abnormal tidak akan mampu untuk membuahi ovum tanpa melihat kategori abnormalitas tersebut (Toelihere, 1993b). Kelainan pada kepala seperti kepala kecil, besar, kerucut dan miring serta terdapat dua kepala termasuk kategori abnormalitas primer termasuk apabila memiliki ekor dua dan akrosom yang salah bentuk, sedangkan kelainan dengan ciri kepala terpisah dari ekor, ekor yang kusut atau bergulung dan ekor patah termasuk kategori abnormalitas sekunder (Partodihardjo, 1992). Kelainan abnormalitas pada penelitian ini

kebanyakan adalah abnormalitas kategori sekunder dan tersier yaitu kepala putus dan terpisah dari ekor, ekor bergulung dan kusut serta ekor patah. Hal ini salah satunya akibat kesalahan pada saat pembuatan preparat ulas. Hal ini dinyatakan oleh Solihati dkk. (2008) bahwa abnormalitas sekunder dan tersier disebabkan kesalahan dalam pembuatan preparat ulas.

SIMPULAN

Kombinasi lama *thawing* 15 detik dan lama *post thawing* 30 menit maksimal 60 menit merupakan waktu terbaik untuk tetap menjaga kualitas spermatozoa sapi Peranakan Ongole untuk digunakan dalam Inseminasi Buatan (IB).

DAFTAR PUSTAKA

- Apriyanti, C. 2012. Pengaruh Waktu Ekuilibrasi Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Pesisir *Pre dan Post Thawing*. Tesis. Universitas Andalas. Padang.
- Bearden, J.H., J.w. Fuquay, dan S.T. Willard. 2004. *Applied Animal Reproduction, 6th edition*. Prentice Hall. New Jersey.
- Feradis, M.P. 2010. *Bioteknologi Reproduksi pada Ternak*. Alfabeta. Bandung.
- Garner, D.L. and E.S.E. Hafez. 2008. *Sperm and Seminal Plasma*. Reproduction in Farm Animal. Lippincot Williams & Wilkins. Philadelphia.
- Hafez, E.S.E. 2000. *Reproduction in Farm Animals, 7 Ed.* Lea and Febringer. Philadelphia.
- _____. 2008. *Anatomy of female reproduction*. Ed pp. 29-55. Lea and Febringer. Philadelphia.
- Herawati, T., A. Anggraeni., L. Praharani., D. Utami., dan A. Argiris. 2012. Peran inseminator dalam keberhasilan inseminasi buatan pada sapi perah. *Informatika Pertanian*. 21 (2): 77-82.
- Kasehung, J., U. Papatungan., S. Adiani dan J. Paath. 2016. Performans reproduksi induk sapi lokal peranakan ongole yang dikawinkan dengan teknik inseminasi buatan di Kecamatan Tompaso Barat Kabupaten Minahasa. *Jurnal Zootehnik*. 12 (1): 76-81.
- Mahesa. R. 2016. Pengaruh lama *thawing* semen beku sapi Simental terhadap viabilitas dan morfologi abnormalitas spermatozoa. *Skripsi*. Universitas Jenderal Soedirman. Purwokerto.
- Oyeyemi, M., M.O. Akusu dan O.E Oladavis. 2000. Effect of successive ejaculation on the spermogram of west African Dwarf Goats (*Capra hircus L*). *Jurnal Veterinarski*. 70(4): 215-221.
- Pareira. G.R., E.G. Becker, L.C. Siqueira, R. Ferreira, C.K. Severo V.S. Truzzi. J.F.C. Oliveira dan P.B.D. Goncalves. 2010. Assessment of bovine spermatozoa viability using different cooling protocols prior to cryopreservation. *Journal of Animal Science*. 9(1): 403-407.
- Partodihardjo S. 1992. *Ilmu Reproduksi Hewan*. PT Muatiara Sumber Widya Jakarta. Jakarta.

- Salim, M. A., T. Susilawati dan S. Wahyuningsih. 2012. Pengaruh metode *thawing* terhadap kualitas semen beku sapi Bali, sapi Madura dan sapi PO. *Jurnal Agripet*. 12 (2): 14-19.
- Sayoko, Y., M. Hartono, dan Silatonga. 2007. Faktor-faktor yang mempengaruhi *proline carnitine* terhadap daya hidup spermatozoa yang disimpan pada suhu 50°C (*chilling semen*). *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*. 6(1): 131-137.
- Solihati, N., R. Idi, S.D. Rasad, M. Rizal dan M. Fitriati. 2008. Kualitas spermatozoa cauda epididymis sapi Peranakan Ongol (PO) dalam pengencer susu, tris dan sitrat kuning telur pada penyimpanan 4-5°C. *Jurnal Animal Production*. 10 (1): 22-29.
- SNI. 2017. *Semen Beku – Bagian 1: Sapi*. BSN. 4869-1:2017.
- Toelihere M.R. 1993a. *Fisiologi Reproduksi pada Ternak*. Angkasa. Bandung.
- _____. 1993b. *Inseminasi Buatan pada Ternak*. Angkasa. Bandung.
- Yulnawati, Herdis, H. Maheswari, A. Boediono, dan M. Rizal. 2009. Potensi reproduksi dan upaya pengembangbiakan kerbau Belang Tana Toraja. *Prosiding Seminar dan Lokakarya Nasional Kerbau*. 11 Januari.