

## **PENGARUH LAMA *THAWING* TERHADAP KUALITAS SPERMA SAPI PERANAKAN ONGOLE (PO) KEBUMEN YANG DIGUNAKAN UNTUK INSEMINASI DI KABUPATEN KEBUMEN**

**Mokhamad Rofingi\*, Faruq Iskandar, dan Zulfanita**

Universitas Muhammadiyah Purworejo

\*Korespondensi email: mokhamadrofingi@yahoo.co.id

**Abstrak.** Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama thawing terhadap kualitas sperma (motilitas sperma, abnormalitas sperma dan persentase hidup sperma) sapi Peranakan Ongole (PO) Kebumen yang digunakan untuk inseminasi di Kabupaten Kebumen. Penelitian ini dilaksanakan di Balai Inseminasi Buatan, Dinas Peternakan Dan Kesehatan Hewan Propinsi JawaTengah. Jl MT Haryono 53 A Sidomulyo Ungaran. Bahan yang digunakan adalah 20 Strow Sapi PO Kebumen Suryolaras.. Rancangan RAL dengan 5 perlakuan dengan 4 Ulangan. Perlakuan lama thawing 30, 60, 90,120 dan 150 detik. Parameter yang diamati motilitas sperma, abnormalitas sperma dan persentase hidup sperma. Data dianalisis dengan analisis statistik SPSS 25. Hasil Penelitian terdapat perbedaan ( $P < 0,05$ ) nyata atau signifikan (95%) pada perlakuan yang diberikan, yaitu lama thawing terhadap motilitas semen sapi PO Kebumen. Lama thawing tidak berpengaruh terhadap Persentase Sperma Hidup yang Diamati perlakuan ( $P > 0,05$ ) pada semen sapi PO Kebumen. Lama thawing dengan suhu lingkungan yang efektif untuk mendapatkan kualitas sperma Sapi PO Kebumen yang digunakan untuk inseminasi di Kabupaten dibutuhkan waktu thawing 90 detik.

**Kata kunci:** thawing, kualitas sperma, motilitas, abnormalitas, persentase hidup

**Abstract.** This study aims to determine the effect of thawing duration to sperm quality (sperm motility, sperm abnormality and sperm life percentage) of Kebumen PO Bulls used for Insemination in Kebumen Regency. This research was carried out at the Center for Artificial Insemination, Animal Husbandry and Animal veterinary of Central Java Province. Jl MT Haryono 53 A Sidomulyo Ungaran. The materials was used 20 Strow Kebumen PO Bulls. The tools were used semen conyainer series MCE 0459, microscope, objec glass, cover glass, countercek, higrometer, thermometer and tool on Ungaran Artificial Insemination Laboratory. The experimental disign was used completely randomised design (CRD) with 5 treatmens and 5 replication. The Thawing treatments were 30, 60, 90, 120 and 150 seconds. The variables were sperm motility, sperm abnormality, and sperm life percentage. Date were analysed Statisticts SPSS 25. The results showed that significant defferent of treatmen ( $P < 0,05$ ) was the thawing treatmen to sperm Kebumen PO Bulls. No significant defferent of treatmen ( $P > 0,05$ ) to sperm life percentage. Thawing duration with an effective enviromental temperature to get sperm qualty Kebumen PO Bulls used for insemination in Kebumen Regensy 90 seconds.

**Keywords:** thawing, sperm quality, sperm motility, sperm abnormality, sperm life percentage

### **PENDAHULUAN**

*Thawing* merupakan pencairan kembali sperma yang telah dibekukan sebelum dilakukan inseminasi. Lama *thawing* mempunyai pengaruh besar terhadap kualitas sperma khususnya motilitas sperma. *Thawing* yang baik adalah yang dapat mencegah kerusakan sperma, sehingga tetap memiliki kemampuan membuahi ovum yang tinggi. Keberhasilan *thawing* yakni semen beku yang dicairkan kembali pada suhu 37°C selama 30 detik harus menunjukkan motilitas

minimal sebesar 40%, gerak individu spermatozoa minimal 2 dan jumlah sperma minimal 25 juta per straw dan presentase yang abnormal maksimal 5 % .

Direktorat Jendral Peternakan membuat standarisasi yaitu menggunakan air suhu 37°C selama 30 detik, namun faktor kemudahan pelaksanaan menjadi pertimbangan inseminator. Fakta dilapangan yang dilakukan oleh peneliti selaku inseminator dalam melaksanakan IB, *thawing* yang dilakukan hanya menggunakan media suhu lingkungan selama persiapan untuk IB dan lama *thawing* masih sering tidak terpantau dengan jelas, pengalaman peneliti selama melaksanakan IB dalam persiapan sampai disuntikkan masih berprinsip pada semakin cepat semakin baik. Persiapan untuk pelaksanaan IB seringkali membutuhkan waktu sampai dengan 3 menit dan berdasarkan *recording* IB tersebut berhasil. Berdasarkan alasan diatas maka perlu adanya penelitian tentang pengaruh lama *thawing* terhadap kualitas sperma sapi PO Kebumen yang digunakan untuk inseminasi di Kabupaten Kebumen tentang lama *thawing* yang baik dalam menjaga kualitas sperma Sapi PO Kebumen yakni motilitas, abnormalitas dan persentase hidup sperma yang masih memenuhi syarat untuk IB.

Berdasarkan latar belakang, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama *thawing* terhadap kualitas sperma (motilitas sperma, abnormalitas sperma dan persentase hidup sperma) sapi Peranakan Ongole (PO) Kebumen yang digunakan untuk inseminasi di Kabupaten Kebumen.

## **METODE PENELITIAN**

Penelitian dilaksanakan di BIB Ungaran dengan jenis pengujian mikroskopis dengan menggunakan Metode Uji SNI 4869 – 1 : 2017 (IK. 5.4.2.1. MT.3). Semen beku yang digunakan adalah semen sapi PO Kebumen yang diperoleh dari Dinas Peternakan Kabupaten Kebumen. Semen beku telah disiapkan dengan disimpan pada kontainer yang berisi nitrogen cair dengan suhu -196 °C. Pengambilan data dilakukan dengan memberikan perlakuan, yaitu *thawing* dengan media suhu lingkungan yakni hanya membiarkan strow diruangan seperti halnya peneliti lakukan pada saat akan melaksanakan IB.

Penelitian ini merupakan penelitian *eksperimental* yang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), karena media percobaan yaitu semen beku yang digunakan dari jenis yang sama yaitu semen beku Sapi PO Kebumen Suryolaras dan perbedaan antar perlakuan hanya disebabkan oleh pengaruh perlakuan dan acak Sudjana (1996). Rancangan RAL dengan 5 perlakuan dengan 4 ulangan. Perlakuan lama *thawing* pada suhu lingkungan terdiri dari : T0 : Lama *Thawing* 30 detik, T1 : Lama *Thawing* 60 detik, T2 : Lama *Thawing* 90 detik, T3 : Lama *Thawing* 120 detik, T4 : Lama *Thawing* 150 detik

Data yang diperoleh dianalisis statistik menggunakan SPSS 25. Karena SPSS memberikan tampilan data yang informatif dan akurat dengan memberikan kode alasan jika terjadi missing data. Analisis yang digunakan untuk parameter motilitas dan kecepatan gerak sperma adalah

menggunakan analisis Kruskal Willis, Apabila terdapat perbedaan perlakuan dilanjutkan dengan Uji Mann-Whitney untuk mencari perlakuan mana yang berbeda.

Analisis data untuk parameter persentase jumlah sperma hidup menggunakan uji One Way Anova. Hal ini dapat dilakukan karena data dari masing-masing parameter terdistribusi normal dan homogen dan jika terdapat perbedaan nyata pada perlakuan maka dilanjutkan dengan Post Hoc menggunakan Uji Tukey HSD untuk melihat pada perlakuan mana yang terdapat perbedaan.

Untuk mengetahui pengaruh perlakuan :

Jika nilai  $Asymp.Sig > 0,05$  maka tidak ada perbedaan atau  $H_0$  diterima dan  $H_1$  ditolak

Jika nilai  $Asymp.Sig < 0,05$  maka terdapat perbedaan atau  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Secara geografis Kebumen terletak pada  $7^{\circ}27' - 7^{\circ}50'$  lintang Selatan dan  $109^{\circ}22' - 109^{\circ}50'$  Bujur Timur. Curah Hujan di Kebumen mencapai 4100 mm dengan kisaran suhu minimum  $25,1^{\circ}C - 33,1^{\circ}C$  dan kelembaban 56% - 95%, (BPS, 2016). Pengamatan kualitas sperma dilakukan di Balai Inseminasi Buatan Jl MT. Haryono Nomor 53 A. Sidomulyo, Ungaran, Semarang, yang secara geografis terletak pada posisi  $110^{\circ}14'54,74'' - 110^{\circ}39'3''$  Bujur Timur dan  $7^{\circ}3'57''$  Lintang Selatan. BIB Ungaran terletak di Desa Sdomulyo Kecamatan Ungaran, berada pada ketinggian  $\pm 316$  m dari permukaan laut dengan suhu udara  $24-30^{\circ}C$ . Luas areal BIB Ungaran sekitar 7 Ha ( $7000 \text{ m}^2$ ) (BPS, 2016). Berdasarkan kondisi geografis tersebut tidak jauh berbeda dengan Kabupaten Kebumen. Suhu saat dilakukan pengamatan sperma adalah  $26,95^{\circ}C$  dengan kelembaban 74%.

Kebumen merupakan salah satu sentra peternakan sapi potong lokal khususnya sapi dari bangsa PO di Jawa Tengah dan ditinjau dari kualitasnya mendekati kualitas aslinya. Hasil penelitian dari Loka Penelitian Sapi Potong menunjukkan bahwa kemurnian Sapi PO di Kabupaten Kebumen mendekati 68%. Disamping itu, Sapi PO Kebumen memperoleh peringkat satu untuk kategori induk Sapi Potong PO pada kontes ternak nasional tahun 2010 (Distannak Kabupaten Kebumen, 2010). Populasi Sapi potong di Kabupaten Kebumen sebanyak 89.429 ekor, sebesar 90 % merupakan Sapi PO (Bappeda Kabupaten Kebumen, 2011

### ***Motilitas Sperma***

Berdasarkan hasil penelitian pengamatan motilitas spermatozoa Sapi peranakan Ongole (PO) Kebumen dengan menggunakan Uji Kruskal Willis terhadap data motilitas didapatkan hasil seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Rataan Persentase Motilitas Sperma

Perlakuan lama <i>thawing</i>	Motilitas (%)		
	Minimum	Maksimum	Rerata + SD
30 detik	0 %	30%	22,50 + 13,33 <sup>a</sup>
60 detik	30%	40%	35,00 + 5,13 <sup>c</sup>
90 detik	35%	50%	43,75 + 5,59 <sup>e</sup>
120 detik	10%	40%	32,50 + 13,33 <sup>bc</sup>
150 detik	40%	40%	40,00 + 0,00 <sup>d</sup>

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ( $P \leq 0.05$ )

Berdasarkan data diatas diketahui bahwa lama *thawing* dengan waktu yang berbeda memberikan pengaruh yang nyata ( $P < 0,05$ ) antar perlakuan (T0;T1, T0;T2, T0;T3, T0;T4, T1;T2, T1;T4, T2;T3, T2;T4 dan T3;T4) terkecuali T1;T3 yang tidak berbeda nyata atau  $P \geq 0.05$ . Evaluasi motilitas sperma *Post Thawing* adalah salah satu parameter yang banyak digunakan untuk menentukan kualitas semen sapi yang akan digunakan untuk inseminasi buatan. Syarat minimal motilitas individu semen *Post Thawing* agar semen dapat digunakan dalam inseminasi buatan adalah 40 % (SNI, 2017). Berdasarkan rerata persentase motilitas T2 yaitu lama *thawing* 90 detik pada suhu lingkungan yang saat itu menunjukkan suhu 26,95°C menunjukkan persentase tertinggi yaitu 43,75 + 5,59%. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan lama *Thawing* 90 detik dengan suhu 26,95°C telah mencairkan spermatozoa secara sempurna, sedangkan persentase motilitas terendah yaitu pada T0 yaitu lama *Thawing* 30 detik dengan suhu lingkungan 26,95°C, hal ini disebabkan oleh *thawing* yang singkat sehingga spermatozoa belum mencair secara sempurna. Sesuai dengan pendapat Gordon (2002), bahwa persentase motilitas rendah karena spermatozoa belum mencair sempurna. Didukung dengan pendapat Feradis (2010), menyatakan bahwa faktor yang dapat menyebabkan rendahnya motilitas adalah cekaman dingin (*cold-shock*) dimana efeknya adalah kematian spermatozoa yang terjadi sesudah *thawing*, sebagai akibat tingginya daya kontraksi selubung lipoprotein dinding sel.

*Thawing* yang dilakukan pada perlakuan T2 yaitu lama *Thawing* 90 detik pada suhu lingkungan memperlihatkan persentase motilitas yang lebih tinggi. Diduga lama *thawing* 90 detik metabolisme sperma berjalan dengan sempurna karena aktivitas reaksi enzimatik yang berlangsung selama metabolisme sel berlangsung optimal. Proses pembentukan dan pemanfaatan sumber energi kimiawi sperma diantaranya digunakan untuk energi gerak berlangsung dengan baik.

Hal ini termanifestasi pada motilitas sperma. Menurut Einarson (1992), proses Thawing dapat mempengaruhi stabilitas dan fungsi hidup membran sel sperma.

### ***Abnormalitas Sperma***

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada sapi Peranakan Ongole (PO) Kebumen dengan perlakuan lama thawing 30, 60, 90, 120 dan 150 detik tidak terdapat abnormalitas pada sperma. Hal ini dikarenakan sapi Peranakan Ongole (PO) Kebumen secara genetik baik dan dengan perlakuan yang dilakukan selama penelitian tidak menyebabkan kerusakan. Hal ini sesuai dengan Sukada (2019), bahwa abnormalitas sperma disebabkan oleh faktor utama yaitu genetik dan nutrisi. Waktu dan suhu perlakuan dapat menyebabkan stres pada sperma sehingga sperma tidak mampu melewati masa kritis selama thawing karena singkatnya waktu dan kurangnya suhu Sukada, (2019). Standar Nasional Indonesia mensyaratkan bahwa semen sapi memiliki morfologi abnormalitas baik primer maupun skunder kurang dari 20% (BSN, 2016). Persentase Hidup Sperma

Data hasil penelitian jumlah sperma hidup dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Jumlah Sperma Hidup

Perlakuan	Jumlah Sperma Hidup		
	Minimum	Maksimum	Rerata + SD
Lama <i>thawing</i>			
30 detik	0	79	52,00 + 35,52 <sup>a</sup>
60 detik	29	68	48,00 + 17,07 <sup>a</sup>
90 detik	50	100	78,25 + 24,74 <sup>ab</sup>
120 detik	19	70	52,75 + 22,91 <sup>a</sup>
150 detik	98	115	103,75 + 7,68 <sup>b</sup>

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ( $P < 0,05$ )

Berdasarkan data diatas diketahui bahwa lama thawing dengan waktu yang berbeda memberikan pengaruh yang nyata ( $P < 0,05$ ) pada Jumlah Sperma Hidup antara T4 dengan T0, T1, dan T3 namun tidak berbeda nyata dengan T2. Akan tetapi, antara T0, T1, T2, dan T3 tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ ).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa T2 dan T4 yaitu perlakuan lama *thawing* 60 dan 150 detik menunjukkan jumlah sperma hidup paling banyak, hal ini menunjukkan bahwa lama *thawing* 150 detik masih baik untuk dilakukan inseminasi karena semen masih memiliki jumlah sperma

hidup yang banyak dan menunjukkan kualitas yang baik hal ini menunjukkan bahwa lama *thawing* 150 detik semen sudah mencair dengan sempurna. Semen yang berkualitas baik adalah semen yang memiliki kandungan sperma hidup dan bergerak maju kedepan dalam jumlah yang banyak Sukada (2019). Standar untuk jumlah sperma hidup untuk *strow* sapi mengacu pada SNI (2017), adalah 25 juta perdososis.

Perlakuan T0,T1 dan T3 menunjukkan jumlah sperma yang hidup lebih sedikit. Hal ini disebabkan karena sperma hidup ditentukan oleh tidak adanya kerusakan pada membran plasma spermatozoa. Sesuai dengan Zulfan (2008) yang menyatakan bahwa membran plasma berfungsi melindungi serta menjaga keseimbangan elektrolit baik intra maupun ekstraseluler. Rusaknya membran plasma menyebabkan terganggunya proses metabolisme dan proses fisiologis spermatozoa sehingga menyebabkan kematian spermatozoa. Keutuhan membran plasma sangat berkorelasi dengan daya gerak spermatozoa. Apabila membran plasma spermatozoa sudah mengalami kerusakan, maka metabolisme spermatozoa akan terganggu sehingga spermatozoa akan kehilangan daya gerak dan mengakibatkan kematian sel (Butarbutar, 2009). Data hasil penelitian jumlah sperma yang diamati dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Jumlah Sperma Yang Diamati

Perlakuan	Jumlah Sperma yang Diamati		
	Minimum	Maksimum	Rerata + SD
Lama <i>thawing</i>			
30 detik	139	282	200,00 + 68,58 <sup>a</sup>
60 detik	87	259	143,50 + 79,13 <sup>a</sup>
90 detik	173	238	194,00 + 30,47 <sup>a</sup>
120 detik	144	224	181,00 + 35,66 <sup>a</sup>
150 detik	234	253	243,50 + 7,77 <sup>a</sup>

Keterangan: Superskrip yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak beda nyata ( $P \geq 0.05$ )

Berdasarkan output SPSS Uji One Way Anova, Sig. adalah 0,152 atau lebih besar dari 0,05. Hasil tersebut menunjukkan bahwa berdasarkan Uji One Way Anova tidak terdapat perbedaan nyata antar perlakuan ( $P > 0,05$ ) atau lama *thawing* tidak berpengaruh terhadap jumlah sperma yang diamati pada semen sapi Peranakan Ongole (PO) Kebumen.

Berdasarkan dua hal diatas yaitu jumlah sperma yang hidup dengan jumlah sperma yang diamati menunjukkan hal yang berbeda. Jumlah sperma yang hidup menunjukkan berbeda nyata sedangkan pada jumlah sperma yang diamati tidak berbeda nyata. Jumlah sperma hidup berbeda nyata karena oleh adanya perlakuan yaitu lama *thawing*. Faktor *thawing* menyebabkan kerusakan

membran spermatozoa yaitu telah teradanya proses radikal bebas elektron yang tidak berpasangan pada metabolis oksigen yang bersifat toksik pada tingkatan yang rendah didalam sel spermatozoa yang bersamaan dengan suplai oksigen yang terbatas sehingga terjadi peningkatan peroksidasi lipid sehingga faktor rusaknya membran spermatozoa yang menyebabkan kematian spermatozoa. Hal ini sesuai dengan pendapat Datta *et all* (2009), bahwa apabila terjadi perubahan suhu yang tidak sesuai secara ekstraseluler maka permeabilitas fosfolipid rusak sehingga menyebabkan fluiditas membran terganggu dan dapat mematikan sperma.

Jumlah sperma yang diamati tidak berbeda nyata karena strow sapi Peranakan Ongole (PO) Kebumen yang diproduksi oleh BIB ungaran adalah strow yang telah terstandarisasi SNI yaitu melalui proses penghitungan kebutuhan jumlah pengencer dengan alat spektrofotometer sesuai standart SNI jumlah sperma sapi per dosos 25 juta. Berdasarkan evaluasi sperma yang dilakukan di BIB ungaran mengamati spermatozoa dengan volume tetesan semen yang sama dan luas bidang pandang yang sama, sehingga menghasilkan hasil analisis yang tidak berbeda nyata. Data hasil penelitian persentase sperma hidup dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Persentase Sperma Hidup

Perlakuan	Persentase Sperma Hidup		
	Minimum	Maksimum	Rerata + SD
Lama <i>thawing</i>			
30 detik	0	40,54	24,61 + 17,31 <sup>a</sup>
60 detik	26,26	45,98	36,03 + 9,58 <sup>a</sup>
90 detik	28,74	51,31	39,91 + 9,39 <sup>a</sup>
120 detik	9,74	48,61	30,82 + 16,45 <sup>a</sup>
150 detik	39,53	47,33	42,63 + 3,31 <sup>a</sup>

Keterangan: Superskrip yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak beda nyata ( $P \geq 0.05$ )

Berdasarkan output SPSS Uji One Way Anova, Sig. adalah 0,291 atau lebih besar dari 0,05. Hasil tersebut menunjukkan bahwa berdasarkan Uji One Way Anova tidak terdapat perbedaan nyata antar perlakuan ( $P > 0,05$ ) atau lama *thawing* tidak berpengaruh terhadap Persentase Sperma Hidup yang Diamati pada semen sapi PO Kebumen.

## KESIMPULAN

Lama *thawing* dengan suhu lingkungan (25,1°C – 33,1°C) berpengaruh terhadap kualitas sperma sapi PO Kebumen yang digunakan untuk inseminasi di Kebumen Lama *thawing* dengan suhu lingkungan (25,1°C – 33,1°C) yang efektif untuk mendapatkan kualitas sperma sapi PO

Kebumen yang digunakan untuk inseminasi di Kebumen adalah untuk kualitas motilitas sperma pada lama *thawing* 90 detik.

#### **SARAN**

Perlu penelitian lebih lanjut tentang kualitas sperma sapi PO Kebumen pada parameter kualitas makroskopis demi terpeliharanya kualitas sperma sapi PO Kebumen dan demi peningkatan keberhasilan inseminasi buatan.

#### **DAFTAR PUSTAKA**

- Badan Pusat Statistik [BPS]. 2016. Statistik Daerah Kabupaten Kebumen 2016: Badan Pusat Statistik Kabupaten Kebumen.
- Badan Pusat Statistik [BPS]. 2016. Statistik Daerah Kota Semarang 2016: Badan Pusat Statistik Kota Semarang.
- Bappeda Kabupaten Kebumen. 2011. Kebumen dalam Angka Badan Perencanaan Pembangunan Daerah Kabupaten Kebumen.
- Butarbutar, E. 2009. Efektifitas Frekuensi Exercise Terhadap Peningkatan Kualitas Semen Sapi Simmental. Fakultas Pertanian, Universitas Sumatra Utara. Medan. Skripsi.
- Datta, U., Sekar, M. C., Hembram, M. L., Dasgupta, R., 2009. Development of a New Method to Preserve Caprine Cauda Epididymal Spermatozoa in situ at 10°C. Proceedings. Department of Veterinary Gynaecology & Obstetrics Faculty of Veterinary and Animal Sciences West Bengal University of Animal and Fishery Sciences. Kolkata West Bengal. India. Deka, B.C. and A. R. Rao. 1987.
- Einarsson S. 1992. Concluding Remarks. In: Influence of thawing method on motility, plasma membrane integrity and morphology of frozen stallion spermatozoa. Bor K, B Colenbrander, A Fazelli, J Pallevliet and L Malmgren (eds.) Theriogenology VI. 48th. 1997. Pp.531-536.
- Feradis. 2010. Bioteknologi Reproduksi Pada Ternak. Alfabeta. Bandung.
- Gordon. 2002. Controlled Reproduction in Cattle and Buffaloes. CABI Publishing. Wallingford.UK
- SNI. 4869-1:2017, Semen Beku, Bagian 1: Sapi. Jakarta
- Sukada, I. K. 2019. Gametogenesis Oogenesis Spermatogenesis. Laboratorium Reproduksi. Fakultas Peternakan Udayana. Bali
- Zulfan, M. 2008. Hubungan Antara Libido Dengan Kualitas Semen Segar Pada Pejantan Bos Taurus. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Malang. Skripsi. Sarjana Peternakan.