

## Kualitas Spermatozoa Semen Beku Sapi Bali pada Suhu Thawing yang Berbeda

### *Quality of Frozen Semen Spermatozoa of Bali Cattle At Different Thawing Temperatures*

Imelda R. Binangkari,<sup>1</sup> I Gusti Ngurah Putu Widnyana<sup>1\*</sup> Yan Alpius Loliwu<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Program Studi Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Sintuwu Maroso,  
Jl. P. Timor No. 1, Poso 94619, Indonesia

\*Penulis Korespondensi

Email: [nwidnyana@unsimar.ac.id](mailto:nwidnyana@unsimar.ac.id)

Masuk : 07-12-2022, Revisi: 14-12-2022, Diterima untuk diterbitkan : 15-12-2022

#### ABSTRAK

Penelitian bertujuan untuk mengetahui kualitas spermatozoa semen beku sapi Bali pada suhu thawing yang berbeda. Yang dilakukan di laboratorium Universitas Sintuwu Maroso. Materi yang digunakan adalah semen beku sapi Bali yang berasal dari Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) Singosari, menggunakan metode eksperimental Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan yaitu suhu thawing 31°C, 34°C, 37°C dan 40°C dan tiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Variabel yang diamati adalah motilitas, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa. Viabilitas dan abnormalitas spermatozoa diamati dengan metode pewarnaan eosin-negrosin. Data hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan analisis varians (Anava), jika ada pengaruh akan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Hasil pemeriksaan secara mikroskopis menunjukkan bahwa rata-rata persentase motilitas tertinggi diperoleh pada perlakuan P1 (61,67%) dan terendah pada perlakuan P4 (35,00%). Rata-rata persentase hidup/viabilitas spermatozoa tertinggi pada perlakuan P3 (71,33%) dan terendah pada perlakuan P4 (59%), dan Rataan abnormalitas tertinggi pada perlakuan P4 (15,67%) dan terendah pada perlakuan P1 (7,67%). Hasil analisis menunjukkan bahwa suhu thawing berpengaruh sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap kualitas spermatozoa semen beku sapi Bali. Kualitas sperma terbaik diperoleh pada perlakuan P1 (31°C), karena telah memenuhi syarat IB yaitu motilitas spermatozoa >40%, viabilitas spermatozoa >50%, abnormalitas spermatozoa <20%.

Kata Kunci: Thawing; Kualitas Spermatozoa; Sapi Bali

#### ABSTRACT

*The aim of this study was to determine the quality of Bali cattle frozen semen spermatozoa at different thawing temperatures. Which was carried out in the laboratory of the University of Sintuwu Maroso. The material used was frozen semen of Bali cattle originating from the Singosari Center for Artificial Insemination (BBIB), using a Completely Randomized Design (CRD) experimental method with 4 treatments namely thawing temperatures of 31°C, 34°C, 37°C and 40°C and each treatment was repeated 3 times. The variables observed were motility, viability and abnormalities of spermatozoa. Spermatozoa viability and abnormality were observed by eosin-negrosin staining method. The research data were analyzed using analysis of variance (Anava), if there was an effect, it would be followed by the Least Significant Difference (LSD) test. The results of microscopic examination showed that the highest average percentage of motility was obtained in treatment P1 (61.67%) and the lowest in treatment P4 (35.00%). The highest average percentage of survival/viability of spermatozoa was in treatment P3 (71.33%) and lowest in treatment P4 (59%), and the highest abnormality average was in treatment P4 (15.67%) and lowest in treatment P1 (7.67%). The results of the analysis showed that thawing temperature had a very significant effect ( $P < 0.01$ ) on the quality of frozen semen spermatozoa of Bali cattle. The best sperm quality was obtained in treatment P1 (31°C), because it met the IB requirements, namely spermatozoa motility >40%, spermatozoa viability >50%, spermatozoa abnormality <20%.*

Keywords: Thawing; semen spermatozoa; Bali cattle

## Pendahuluan

Ternak ruminansia besar (sapi dan kerbau) mempunyai peranan penting dalam memenuhi kebutuhan daging sebagai sumber protein hewani, walaupun perannya masih merupakan nomor dua setelah unggas. Sapi Bali (*Bos javanicus*) sebagai plasma nutfah yang ada di Indonesia termasuk salah satu ternak yang dikembangkan keberadaannya untuk mendukung pemenuhan gizi dari protein hewani. Sangat banyak keunggulan yang dimiliki sapi Bali antara lain: pertumbuhan yang cepat, sebagai sapi pekerja yang baik dan efisien, daya adaptasi yang tinggi terhadap lingkungan dan persentase beranak mencapai 80% (Hardjosubroto, 1994).

Dalam pembibitan sapi Bali, keterbatasan jumlah pejantan unggul dapat diatasi dengan menerapkan program teknologi reproduksi seperti halnya inseminasi buatan (IB) dimana potensi pejantan unggul sapi Bali dapat dimanfaatkan secara optimal. Keuntungan lain yang dapat diperoleh adalah mengatasi kendala jarak dan waktu, mencegah penularan penyakit dan menghemat dana pemeliharaan pejantan. Salah satu faktor yang menentukan keberhasilan dalam pelaksanaan inseminasi buatan adalah kualitas semen beku yang digunakan. Teknik peningkatan mutu genetik ternak salah satunya dapat ditempuh dengan Inseminasi Buatan (IB).

IB merupakan proses perkawinan yang dilakukan dengan campur tangan manusia, yaitu mempertemukan sperma dengan sel telur agar dapat terjadi proses pembuahan/fertilisasi (Partodihardjo, 1992). Salah satu komponen terjadinya fertilisasi pada makhluk hidup adalah adanya spermatozoa yang baik. Kemampuan spermatozoa untuk membuahi sel telur tidak hanya tergantung pada volume cairan yang dikeluarkan oleh pejantan tetapi dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor lain. Menurut Toelihere (1985), bahwa volume semen bervariasi antara 1-12 ml tiap ejakulat untuk sapi yang masih muda, dan untuk sapi yang telah dewasa dapat menghasilkan semen tiap ejakulat 10-15

ml. Inseminasi buatan merupakan teknologi yang dapat mengatasi keterbatasan jumlah pejantan unggul, agar kapasitas reproduksi pejantan dapat dimanfaatkan secara maksimal.

Semen beku yang akan digunakan untuk IB diambil dari container yang berisi N<sub>2</sub> cair yang mempunyai suhu -196°C, oleh karena itu harus dilakukan thawing (pencairan kembali) sebelum dilakukan IB. Suhu dan lama thawing mempunyai pengaruh besar terhadap keadaan spermatozoa khususnya ketahanan spermatozoa dalam semen.

Kombinasi suhu dan lama thawing yang baik mengakibatkan sedikit kerusakan spermatozoa, sehingga tetap memiliki kemampuan yang tinggi untuk membuahi ovum (Toelihere, 1985).

Banyak pendapat tentang berapa suhu thawing yang umum dilakukan untuk mendapatkan kualitas spermatozoa yang baik dalam pelaksanaan IB. Untuk itu perlu adanya penelitian tentang suhu thawing yang optimal agar kualitas semen masih memenuhi syarat untuk IB.

## Metode Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Universitas Sintuwu Maroso Poso. Bahan yang di gunakan terdiri dari 60 Straw semen beku sapi Bali yang diperoleh dari Balai Besar Inseminasi Buatan Singosari, Malang, Jawa Timur, Air dengan suhu yang berbeda atau sesuai perlakuan, Zat warna eosin-negrosin, Carbolfuksin, alkohol 70%, tissue dan sepritus. Alat yang digunakan terdiri dari Kontainer, mikroskop elektrik, object glass, cover glass, gunting, stopwatch, pinset besar/kecil, tusuk gigi dan kertas lable, Termos air dan baskom, Alat fiksasi dan thermometer

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 4 perlakuan dan 3 ulangan. Jumlah straw yang digunakan sebanyak 60. Adapun perlakuan tersebut terdiri dari : P1 = Suhu air 31°C, P2 = Suhu air 34°C, P3 = Suhu air 37°C, P4 = Suhu air 40°C .

Pengambilan data dilakukan dengan menggunakan metode kerja berdasarkan standar baku (Toilehere, 1985), Standar Nasional Indonesia (2002) dan Hafez (2000) yakni pengambilan straw dari

container, yaitu straw dikeluarkan dari container secara hati-hati dengan menggunakan sarung tangan dan pinset besar, kemudian dimasukkan ke dalam baskom / loyang yang telah berisi air hangat (sesuai suhu perlakuan).

Perlakuan suhu thawing straw, yaitu straw yang telah dimasukkan dalam baskom berisi air dengan suhu yang sesuai dengan perlakuan dan lama thawing yang sama yakni 30 detik kemudian diangkat menggunakan pinset kecil, keringkan straw menggunakan kertas tissue yang bersih, selanjutnya ujung straw digunting agar semen dapat dikeluarkan dari straw, kemudian ditetaskan pada objek glass yang telah disediakan sebelumnya dan ditutup dengan cover glass serta diberi label pada ujung objek glass agar tidak terjadi kesalahan dalam pencatatan pengambilan data.

Pemeriksaan sampel semen beku sapi Bali secara mikroskopis, menggunakan mikroskop (pembesaran 400 kali) berdasarkan petunjuk (Toilehere, 1985, Partodiharjo, 1992, Hafes dan Hages, 2000 dan Anonymous, 2002).

1. Evaluasi persentase motilitas.

$$\% \text{ motilitas sperma} = \frac{\text{Total spermatozoa diamati}}{\text{jumlah spermatozoa progresif}} \times 100$$

2. Penilaian viabilitas semen beku sapi Bali

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

3. Persentase abnormalitas spermatozoa

$$\% \text{ Abnormalitas sperma} = \frac{\text{Total spermatozoa diamati}}{\text{jumlah spermatozoa Abnormal}} \times 100$$

Data dianalisis menggunakan ANOVA (Analisis Of Variance). Jika hasil uji ANOVA menunjukkan pengaruh yang signifikan diantara perlakuan suhu thawing yang berbeda maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) 1% menurut Sastrosupadi (2000).

**Hasil dan Pembahasan**

**A. Motilitas Spermatozoa Semen Beku Sapi Bali Setelah Thawing**

Hasil pemeriksaan secara mikroskopis persentase spermatozoa semen beku sapi Bali dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil pemeriksaan secara mikroskopis persentase motilitas spermatozoa semen beku sapi Bali.

Perlakuan	Total	Rata - rata
P 1	185	61,67
P 2	160	53,33
P 3	160	53,33
P 4	105	35,00

Hasil penelitian seperti yang terlihat pada Tabel 1 diketahui bahwa rata-rata motilitas tertinggi pada suhu 31°C yaitu sebesar 61,67%, kemudian diikuti perlakuan suhu 34°C dan 37°C yaitu sebesar 53,33%, dan pada suhu 40°C yaitu sebesar 35,00%. Perlakuan 31°C dan lama thawing 30 detik memberi nilai kualitas semen beku yang terbaik, karena memberi nilai jauh dibawah standar minimal persentase motilitas 40%. Rendahnya persentase motilitas spermatozoa dari semen beku sapi Bali pada perlakuan suhu thawing 40°C (35%) disebabkan karena tingginya suhu thawing sebagaimana yang dikemukakan oleh Bearden dan Fuquqy (1997) bahwa peningkatan suhu akan meningkatkan laju metabolisme dan menurunkan daya tahan hidup spermatozoa sehingga spermatozoa akan kehilangan motilitasnya. Sebaliknya penurunan suhu akan memperlambat laju metabolisme dan memperpanjang umur spermatozoa.

Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa perlakuan suhu thawing yang berbeda sangat nyata P>0,01 terhadap motilitas spermatozoa semen beku sapi Bali. Motilitas atau daya gerak spermatozoa merupakan kemampuan gerak maju progresif spermatozoa, yang merupakan salah satu indikasi dalam menentukan kualitas semen segar dan semen beku (Ilyas, 2009).

Daya gerak sangat dibutuhkan spermatozoa untuk mencapai tempat pembuahan saat menembus lapisan pelindung sel telur (zona pellucida). Menurut Hafez (2000), daya fertilitas spermatozoa sangat ditentukan oleh jumlah total spermatozoa yang hidup dan bergerak aktif ke depan. Rataan persentase motilitas spermatozoa pada hasil pengamatan

setelah thawing menunjukkan hasil yang bervariasi. Diperoleh gerakan yang sangat progresif pada suhu 31°C dan gerak progresif pada suhu 34°C dan suhu 37°C, sedangkan perolehan suhu thawing 40°C gerakan spermatozoa sangat lambat. Menurut Partodiharjo (1992), spermatozoa progresif adalah spermatozoa yang bergerak ke arah depan dari satu titik ke titik yang lain pada satu garis lurus.

Persentase motilitas pada suhu 31°C, 34°C dan 37°C menunjukkan bahwa semen beku memenuhi standar layak yang digunakan dalam IB dikarenakan sudah memenuhi ketentuan uji setelah thawing (Post), yaitu motilitas spermatozoa setelah yang dapat digunakan untuk IB adalah tidak kurang dari 40% sperma motil. Sesuai dengan pendapat Zenichiro (2002), bahwa persentase spermatozoa motil setelah thawing minimal 40%.

Hasil penelitian menunjukkan adanya pengaruh dari perbedaan suhu terhadap persentase motilitas spermatozoa semen beku sapi Bali, hal ini terlihat bahwa semakin tinggi suhu thawing maka dapat mempengaruhi kualitas semen beku semakin menurun. Penelitian yang dilakukan Jupri, (2008) pada perlakuan thawing 30 detik dengan suhu 30°C diperoleh persentase motilitas tertinggi (63,63%) memberikan persentase jauh lebih tinggi dari standar minimal.

## B. Viabilitas Spermatozoa Semen Beku Sapi Bali Setelah

Hasil pemeriksaan secara mikroskopis persentase viabilitas spermatozoa semen beku sapi Bali diperoleh rata-rata hasil pengamatan kualitas semen beku sapi Bali terhadap viabilitas spermatozoa dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil pemeriksaan secara mikroskopis persentase viabilitas spermatozoa semen beku sapi Bali

Perlakuan	Total	Rata - rata
P 1 (31°C)	182	60,67
P 2 (34°C)	194	64,67
P 3 (37°C)	214	71,33
P 4 (40°C)	177	59,00

Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa perlakuan suhu

thawing memberikan hasil yang signifikan terhadap viabilitas spermatozoa dengan persentase viabilitas tertinggi pada perlakuan 37°C (P3) merupakan viabilitas yang terbaik yaitu 71,33%) dan persentase terendah pada perlakuan suhu thawing 40°C (59,00%) Hasil analisis menunjukkan bahwa ada pengaruh suhu terhadap viabilitas spermatozoa. Hasil Uji Beda Nyata terkecil (BNT) menunjukkan bahwa perlakuan antara P1 (31°C), P2 (34°C) dengan P4 (40°C) berbeda nyata  $P > 0,05$ . Perlakuan antara P3 (37°C) dengan P4 (40°C) berbeda sangat nyata  $P > 0,01$ , Sedangkan antara perlakuan P1 (31°C) dengan P2 (34°C) berbeda tidak nyata  $P < 0,05$  dan antara perlakuan P1 (31°C), P2 (34°C) dengan P3 (37°C) berbeda nyata  $P > 0,05$

Persentase viabilitas spermatozoa dapat dihitung dengan melihat reaksi spermatozoa terhadap zat warna tertentu, dimana spermatozoa yang hidup tidak berwarna (tidak menyerap zat warna) sedangkan spermatozoa yang mati akan menyerap zat warna (Salisbury dan VanDemark, 1985). Menurut Partodihardjo (1992), bahwa sel-sel yang hidup akan sedikit sekali menghisap warna sedangkan sel-sel yang mati mengambil warna karena permeabilitas dinding sel meninggi sewaktu mati. Perbedaan kemampuan menghisap zat warna antara sel-sel mati dan yang hidup memberi kemungkinan untuk menaksirkan jumlah spermatozoa yang hidup lebih obyektif. Menurut Hunter (1995), bahwa zat warna eosin tidak bisa menembus ke dalam spermatozoa hidup akibat membran plasmanya masih utuh.

Persentase spermatozoa hasil pengamatan, menunjukkan semua perlakuan layak digunakan untuk IB. Menurut Toelihere (1993), menyatakan bahwa semen yang baik memiliki persentase viabilitas diatas 50%. Pada penelitian terdahulu (Yudhaningsih, 2004), menyatakan bahwa suhu yang rendah akan mengakibatkan bocornya substansi vital dalam spermatozoa sehingga enzim intraseluler, lipoprotein, ATP, intraseluler dan lemak berfosfor berkurang dan menyebabkan kerusakan membran plasma sehingga persentase viabilitas menurun.

### C. Abnormalitas Spermatozoa Semen Beku Sapi Bali

Data hasil pengamatan abnormalitas spermatozoa semen beku sapi Bali disajikan pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Pemeriksaan Secara Mikroskopis Presentase Abnormalitas Spermatozoa Semen Beku Sapi Bali

Perlakuan	Total	Rata - rata
P 1 (31°C)	23	7,67
P 2 (34°C)	34	11,33
P 3 (37°C)	35	11,67
P 4 (40°C)	47	15,67

Dari Tabel 3 terlihat bahwa rata-rata abnormalitas spermatozoa semen beku sapi Bali terkecil hasil pengamatan pada suhu 31°C (7,67%). Pada suhu 34°C yang memiliki abnormalitas spermatozoa yakni sebesar 11,33%. Sedangkan pada suhu 37°C yang memiliki abnormalitas spermatozoa sebesar 11,67%. Pada suhu 40°C mempunyai tingkat abnormalitas terbesar yakni 15,67%. Hasil analisis ANOVA menunjukkan bahwa ada pengaruh suhu terhadap abnormalitas spermatozoa.

Hasil uji BNT menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antara perlakuan P1 (31°C), P2 (34°C), P3 (37°C) dengan P4 (40°C) dimana  $P > 0,05$ . Pada perlakuan antara P2 (34°C) dengan P3 (37°C) berbeda tidak nyata ( $P < 0,05$ ). Antara perlakuan P2 (34°C) dengan P4 (40°C) berpengaruh sangat nyata ( $P > 0,01$ ). Sedangkan antara perlakuan P3 (37°C) dengan P4 (40°C) berbeda sangat nyata ( $P > 0,01$ ).

Abnormalitas spermatozoa merupakan penyimpangan morfologi dari kerangka normal spermatozoa. Perbedaan antara spermatozoa abnormal dan spermatozoa yang normal terbentuk pada waktu spermatogenesis dan abnormal sebagai akibat dari perlakuan semen. Menurut Toelihere (1985), umumnya semua penyimpangan morfologi dari kerangka

normal dianggap sebagai bentuk tidak normal. Perbedaan antara spermatozoa yang terbentuk pada waktu spermatogenesis dengan spermatozoa abnormal akibat perlakuan suatu hal yang penting.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada semua perlakuan suhu memiliki persentase abnormalitas yang layak untuk digunakan dalam IB. Sesuai dengan pendapat Bearden and Fuquay (1984), bahwa setiap semen yang diejakulasikan pasti mengandung beberapa spermatozoa yang abnormal morfologinya. Abnormalitas sebesar 8-10% tidak berpengaruh pada fertilitas, tetapi apabila abnormalitas melebihi 25% dari total ejakulat maka akan berpengaruh pada fertilitas. Ditambahkan oleh Partodihardjo (1998) bahwa, lebih dari 20% spermatozoa yang abnormal menunjukkan kualitas spermatozoa yang jelek.

Hasil pemeriksaan secara mikroskopis diperoleh abnormalitas spermatozoa dengan bentuk spermatozoa kepala tanpa ekor, ekor yang melingkar serta kepala yang kecil. Menurut Salisbury dan VanDemark (1985), bahwa abnormalitas morfologi spermatozoa diklasifikasikan pada lima

### Kesimpulan dan Saran

#### Kesimpulan

1. Hasil penelitian menunjukkan bahwa suhu thawing berpengaruh sangat nyata ( $P > 0,01$ ) terhadap kualitas spermatozoa semen beku sapi Bali. Kualitas spermatozoa diperoleh pada suhu 31°C, karena telah memenuhi syarat IB, yakni motilitas spermatozoa  $> 40\%$ , viabilitas spermatozoa  $> 50\%$ , abnormal spermatozoa  $< 20\%$ .
2. Hasil pemeriksaan secara mikroskopis menunjukkan bahwa persentase rata-rata motilitas tertinggi diperoleh pada perlakuan P1 (61,67%) dan terendah pada perlakuan P4 (35,00%).

Persentase hidup spermatozoa tertinggi pada perlakuan P3 ( 71,33%) dan terendah pada perlakuan P4 (59%), sedangkan untuk abnormalitas tertinggi pada perlakuan P4 (15,67%) dan terendah pada perlakuan P1 (7,67%).

#### Daftar Pustaka

- Anonimous, 2002. Standar Nasional Indonesia. Prosedur Tetap Pembuatan Semen Beku (Frozen Semen). Dirjen Peternakan Republik Indonesia, Jakarta.
- Bearden, H.J. and J.W. Fuquay, 1984. Applied Animal Reproduction, 4th Ed. Mississippi State University, New Jersey. Pp. 133-141
- Feradis, 2010. Reproduksi Ternak. Alfabeta, Bandung.
- Hardjosubroto W. 1994. Aplikasi Pemuliabiakan Ternak di Lapangan. PT. Gramedia Widiasarana Indonesia, Jakarta.
- Hafez, E. S. E. 2000. Reproduction in farm animals. 7th Edition. Lea and Febiger. Philadelphia
- Hunter, R.H.F. 1995. Fisiologi dan Teknologi Reproduksi Hewan Betina Domestik. ITB. Bandung
- Jupri M., 2008. Viabilitas Spermatozoa Semen Beku Sapi Potong pada Waktu Thawing yang Berbeda. Skripsi. Jurusan Produksi Ternak, Fakultas Pertanian, Universitas Sintuwu Maroso, Poso.
- Ilyas M. Moh. 2009. Viabilitas Semen Sapi Simental Yang Dibekukan Menggunakan Krioprotektan Gliserol. J. Agroland 16 (2): 172-179, Juni 2009 ISSN: 0854 Jurusan Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Tadulako. –
- Lindsay. 1982. Reproduksi Ternak di Indonesia. Fakultas Peternakan dan Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Partodiharjo, S. 1992.. Fisiologi Reproduksi Hewan. Mutiara Sumber Widya. IPB. Bogor.
- Salisbury, G.W dan VanDemark. 1985. Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi. Gajah Mada. University. Press. Yogyakarta.
- Sastrosupadi, A. 2000. Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian. Kanisius, Yogyakarta.
- Toelihere, M. R. 1985. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Angkasa. Bandung. 1985.
- Zenichiro. 2002. Intruksi Praktis Teknologi Prosesing Semen Beku pada Sapi. Balai Besar Inseminasi Buatan Singosari- JICA. Malang