PENGARUH MOTILITAS SPERMATOZOA SEMEN BEKU SAPI PERAH BERPENGERCER SUSU SKIM DENGAN METODE THAWING YANG BERBEDA

Fachroeerozi Hoesni[1]

Abstract

Research conducted at the Faculty of Animal Reproduction Laboratory Animal Edinburgh University, on May 8 through June 15, 2014. The material used is 30 straw frozen semen from the male dairy cows BIB Lembang. Materials and tools used are thermometer, microscope, glass objects, cover glass, container of liquid nitrogen gas, water bath, micropipette, stop watch, scissors, tissue rolls.

The experimental design used was a completely randomized design (CRD) with 4 treatments (P1, P2, P3, P4) and 6 replicates, The treatment is P1: room temperature 60 seconds, P2: Temperature 37 ° C for 30 seconds, P3: temperature of 50 ° C for 12 seconds and P4 temperatures of 70 ° C for 8 seconds.

From the research shows that the thawing of frozen semen FH cows at room temperature for 60 seconds and 37 ° C for 30 seconds produces better sperm motility than other treatments, so that the lower the level of decline compared with the results obtained lower motility, the rate higher losses.

Based on the results of this study concluded that long and thawing temperatures affect sperm motility, motility best is at 37 ° C for 30 seconds and room temperature for 60 seconds.

Keyword : spermatozoa, dairy cows, thawing method

PENDAHULUAN

Peningkatan produksi peternakan merupakan sasaran yang akan di capai dalam usaha pemenuhan protein asal hewani. Teknologi reproduksi dibutuhkan dalam menunjang keberhasilan produksi ternak, diantaranya teknologi tersebut adalah Inseminasi buatan (IB). IB merupakan salah satu metode perkawinan yang efektif untuk menghasilkan mutu genetik ternak yang unggul, dimana dalam pelaksanaan IB diperlukan ketersediaan semen secara kontinyu dengan kualitas dan kuantitas yang baik serta memiliki daya fertilitas tinggi.

Pelaksana inseminasi buatan mempunyai peran besar dalam keberhasilan inseminasi buatan, karena prosedur pelaksanaan inseminasi buatan mulai dari pengamatan berahi, handling semen beku, thawing semen beku sampai dengan pelaksanaan inseminasi sangat mempengaruhi keberhasilan perkawinan. Metode thawing semen beku menjadi salah satu faktor yang sangat menetukan karena menurut Evans dan Maxwell (1987) *thawing* semen beku merupakan prosedur yang paling penting dalam inseminasi buatan. Hal ini dikarenakan penggunaan metode thawing yang tidak tepat akan menyebabkan kerusakan spermatozoa sehingga menurunkan kualitas semen. (Evans dan Maxwell, 1987; Deka dan Rao, 1987; Soepriondho, 1985) sehingga mengakibatkan penggunaan metode thawing di lapangan sangat beragam pula. Untuk menghasilkan ualitas semen yang baik Jendral Peternakan membuat standarisasi metode thawing yaitu penggunaan air suhu 37 ℃ selama 30 detik.

Balai Inseminasi Buatan (BIB) Lembang Bandung sebagai lembaga produsen semen sapi menggunakan pengencer dasar susu skim dan kuning telur sebagai media pengencer. Susu merupakan medium isotonik yang mengandung beberapa komponen yang menguntungkan utuk memelihara kelangsungan hidup spermatozoa. Susu skim merupakan bahan pengencer yang banyak digunakan karena dapat melindungi spermatozoa, dengan adanya pelindung berupa lipoprotein dan lesitin yang bekerja pada selubung sel spermatozoa, disamping itu susu skim juga mengandung glukosa, bermacam-macam protein dan vitamin yang larut dalam lemak yang menguntungkan bagi spermatozoa (Salisbury dan Van Demark, 1985).

Pada proses pembekuan semen akan menyebabkan terbentuknya Kristal es yang dapat merusak membrane sel spermatozoa. Upaya untuk mencegah terbentuknya Kristal es dapat digunakan bahan pengencer krioprotektan yaitu gliserol. Penambahan krioprotektan dapat memelihara keutuhan membrane dan meningkatkan potensial osmotic media sehingga cairan di dalam sel mengalir keluar dan terjadi dehidrasi. Prinsip kerja dari agen *cryoprotectant* adalah meningkatkan kemampuan mempertahankan air dalam larutan, secara teknis agen tersebut bekerja dengan merubah avaibilitas air untuk menanggulangi dehidrasi sel atau bekerja dengan menghambat pembentukan *ice crystal*. Bahan pengencer yang mempunyai sifat sebagai krioprotektan adalah mutlak diperlukan, untuk melindungi spermatozoa selama pendinginan/pembekuan melalui mekanisme meminimalkan pembentukan Kristal es yang dalam hal ini gliserol sering digunakan (Memon dan Ott, 1981).

[1] Dosen Fak. Peternakan Universitas Jambi

Pada pembekuan semen suhu thawing yang tepat sangat diperlukan, akan tetapi pada saatthawing dapat menyebabkan kematian sel spermatozoa pada suhu yang kritis. Kematian ini terjadi pada suhu kritis antara -15 ℃, sedangkan semen beku akan membeku pada suhu -0,53 ℃, (Hardijanto, 2010). Suhu thawing 37 ℃ selama 30 detik memberikan hasil yang lebih baik untuk kualitas semen beku. Pace dkk. (1981) menyatakan persentase motilitas tertinggi diperoleh pada suhu thawing 37 °C.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh metode thawing berdasarkan lama dan suhu thawing terhadap motilitas sapi FH yang diencerkan dengan susu skim.

TINJAUAN PUSTAKA

Semen Sapi

Semen adalah sekresi dari organ kelamin jantan yang diejakulasikan ke dalam saluran kelamin hewan betina sewaktu kopulasi atau dapat ditampung melalui beberapa cara untuk keperluan inseminasi buatan (Toelihere, 1985). Suhartojo (1980) menjelaskan semen yang diejakulasikan terdiri atas dua bagian yaitu bagian spermatozoa yang dihasilkan oleh tubuli seminiferi atau epitiel kecambah di dalam testis dan plasma semen dihasilkan oleh epididimis dan kelenjar vesikularis, prostat dan sedikit cowper.

Semen terdiri dari dua bagian yaitu spermatozoa dan plasma semen;plasma semen merupakan media pergerakan spermatozoa di dalam saluran kelamin betina, selain itu juga merupakan penyedia makanan bagi spermatozoa (Partodiharjo, 1992). Plasma semen mengandung unsure organic dan anorganik, unsure anorganik air mani terdiri dari bahan kation yang merupakan pemelihara kesimbangan tekanan osmose semen, karbohidrat dan mineral – mineral, sedangkan unsure organic air mani terdiri dari gula-gula, asam amino, senyawa yang mengandung fosfor, asam askorbat, vitamin, asam laktat, asam sitrat dan enzim (Salsibury dan Van Demark, 1985).

Toelihere (1994) menyatakan karakteristik sapi yang baik menghasilkan volume semen 5 – 8 ml, dengan motilitas 85% serta abnormalitas 15% pada semen segar, sedangkan konsentrasi spermatozoa dalam semen segar berkisar 300 – 2500 juta/ml. Spermatozoa terdiri dari dua bagian yaitu bagian kepala dan bagian ekor yang diselaputi oleh membrane spermatozoa. Bagian kepala berperan dalam melakukan penetrasi sel telur guna memasukkan materi genetic, sedangkan bagian ekor mengandung perangkat metabolism untuk menghasilkan energy dan merupakan perangkat alat pergerakan spermatozoa (Salamon dan Maxwell, 1987).

Spermatozoa merupakan sel kecil, kompak dan sangat khas serta tidak bertumbuh dan membagi diri, mempunyai ukuran dan bentuk yang berbeda pada berbagai jenis hewan, namun struktur morfologinya sama secara esensial terdiri dari kepala, bagian tengah, dan ekor (Toelihere, 1985). Bagian anterior kepala spermatozoa dilindungi oleh akrosom yang mengandung enzim yang sangat potensial untuk fertilisasi dan berkisar 65% dari kepala spermatozoa terdiri dari nucleus, sedangkan nucleus ini mengandung bahan organic (DNA) dan bersenyawa dengan protein (Fandson, 1993).

Pengenceran

Pengenceran semen adalah upaya untuk memperbanyak volume semen, mengurangi kepadatan spermatozoa serta menjaga kelangsungan hidup spermatozoa sampai waktu tertentu pada kondisi penyimpanan di bawah atau diatas titik beku (Rusdin dan Jum'at, 2000).

Larutan pengencer semen yang memiliki komposisi kimia lebih lengkap akan memberikan fungsi yang baik bagi spermatozoa yang diencerkan, subtract-subtrat nutrisi diperlukan spermatozoa untuk mempertahankan hidupnya, terutama bagi spermatozoa yang disimpan terlebih dahulu sebelum diinseminasikan (Ridwan, 2008).

Tujuan pengenceran semen adalah memperbanyak volume semen juga untuk pengawetan semen, dengan bahan pengencer yang baik harus mengandung zat makanan untuk kebutuhan energy, melindungi spermatozoa dari kejut dingin, bersifat sebagai penyagga terhadap perubahan pH akibat penumpukan asam laktat dan mengahmbat pertumbuhan (Djanuar, 1985).

Syarat – syarat bahan pengencer yaitu harus ekonomis, murah, mudah didapat, mengandung unsure – unsure yang hampir sama sifat fisik dan kimianya dengan semen, mempertahankan dan tidak membatasi daya fertilitas spermatozoa serta mampu memberikan kemungkinan penilaian spermatozoa setelah pengenceran (Toelihere, 1985) sedangakan Hafez (2000) menyatakan bahwa tinggi rendahnya tingkat pengenceran semen tergantung kepada volume semen, konsentrasi semen, persentase spermatozoa hidup, motilitas spermatozoa dan keperluan dosis spermatozoa untuk inseminasi buatan.

Di dalam pengenceran semen, suhu

pengenceran dan waktu penyimpanan memegang peranan penting terhadap daya tahan hidup spermatozoa dimana perubahan suhhu yang mendadak dapat menimbulkan kematian spermatozoa yang diakibatkan oleh banyaknya ATP yang dipecah untuk memperoleh energy dan untuk menghindarkannya dapat dilakukan dengan secara bertahap (Hardjopranjoto, 1980)

Penggunaan susu skim berfungsi sebagai bahan pelindung spermatozoa dari pengaruh suhu rendah sekaligus sebagai bahan makanan bagi spermatozoa (Perry, 1960). Susu skim merupakan bahan pengencer yang banyak digunakan karena dapat melindungi spermatozoa dari pengaruh suhu rendah dengan adanya pelindung berupa lipoprotein dan lesitin yang bekerja pada selubung sel spermatozoa, disamping itu susu skim juga mengandung glukosa, bermcam-macam protein dan vitamin yang larut dalam lemak yang menguntungkan bagi spermatozoa (Salisbury dan Van Demark, 1985).

Larutan susu skim dibuat dari 10 gram susu bubuk yang dilarutkan dengan aquadestilata bervolume 100 ml (Melrouse, 1983). Larutan susu skim 9% yang dipanaskan pada temperature tinggi sebagai bahan pengencer yang diencerkan dengan aquadestilata akan memiliki fertilisas tinggi (Melrouse, 1983). Pengencer susu skim yang tidak dipanaskan terlebih dahulu akan menyebabkan spermatozoa mati dalam waktu 1-2 hari, tetapi jika susu tersebut terlebih dahulu dipanaskan selama beberapa menit sebelum dipakai, akan menyebabkan spermatozoa hidup (Salisbury dan Van Demark, 1985).

Motilitas Spermatozoa

Energy untuk motilitas spermatozoa berasal dari perombakan adenosine triphospat (ATP) di dalam selubung mitokondria melalui reaksi – reaksi penguraiannya menjadi adenosine disphospat (ADP) dan adenosine monophospat (AMP) (Hardijanto, 2010).

Umumnya terdapat tiga bentuk motilitas spermatozoa yaitu bergerak ditempat, bergerak melingkar dan bergerak maju (motif progresif) (Salisbury da Van Demark, 1985). Motiitas spermatozoa berpusat pada bagian ekor karena pada bagian ini terdapat dua fibril sentrial yang dikelilingi oleh sebuah cincin terdiri dari Sembilan pasang fibril perifel¸ dimana fibril-ffibril ini mampu menggerakkan ekor spermatozoa yang bersifat kontraktil (Sorensen, 1979).

Umiyasih dkk. (1993), menyatakan bahwa persentase spermatozoa yang ditunjukkan oleh persentase gerakan individu kurang dari 40% menunjukkan bahwa kualitas semen kurang baik, bila motilitas spermatozoa berkisar antara 50-80 % dalam gerakan motil progresif dinyatakan fertile.

Motilitas spermatozoa dipengaruhi oleh kesehatan pejantan, umur, gizi makanan pejantan, frekuensi penampungan semen dan keadaan pada pagi hari penampungan semen (Hafez, 2000). Djanuar (1985), bahwa sesuai dengan bentuk morfologi spermatozoa dan metaboliknya yang khusus dengan produksi tinggi, spermatozoa hidup dapat mendorong dirinya sendiri maju ke depan dalam lingkungan zat cair.

Evaluaisi motilitas spermatozoa 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 diperguakan dalam inseminasi buatan adalah 40% (Garner dan Hafez, 1993).

Menurut Situmorang (2002) penurunan motilitas spermatozoa setelah pendinginan diduga disebabkan karena turunnya kandungan *phospolipid* dan kolestrol pada masing-masing bangsa dan pejantan. Kedua senyawa tersebut merupakan komponen membrane. *Phospolipid* berfugsi untuk melindungi sel spermatozoa dari *cold shock.* Sedangkan kolestrol berperan penting dalam menjaga integritas sel spermatozoa dari variasi system membrane yang bertambah selama proses pendinginan.

Arifiantini (2004) menyatakan bahwa motilitas spermatozoa yang dilakkan setelah thawing minimal 40% jika kurang dari 40% maka semen beku tersebut tidak layak di inseminasikan.

Thawing

Evans dan Maxwell (1987) menyatakan bahwa suhu thawing di atas 37 °C akan meningkatkan daya hidup spermatozoa, tetapi bila melebihi batas waktu kritis akan bersifat fatal pada sel spermatozoa. Soepriondho (1985), suhu yang tinggi dalam media thawing akan menyebabkan proses metabolism spermatozoa meninggi sehingga memerlukan energy yang tinggi pula. Suhu thawing mempengaruhi sifat-sifat membrane seluler (Corea dkk, 1996).

Menurut Toelihere (1994), untuk menghasilkan semen beku yang berkualitas tinggi dibutuhkan bahan pengencer semenyang mampu mempertahankan kualitas spermatozoa selama proses pendinginan, pembekuan, maupun pada saat thawing. Kerusakan sel selama proses pembekuan dan thawing disebabkan karena terjadinya peroksidasi lipid pada spermatozoa sehingga menurunkan daya idup (Alfarez dan Storey, 1982).

Thawing semen beku yang dilkukan dengan tepat untuk menjaga keseimbangan osmotic dan memperbaiki konfigurasi lipid protein dar membrane sel spermatozoa selama proses pembekuan (Farstad, 1986). Proses thawing dapat mempengaruhi

stabilitas dan fungsi-fungsi hidup membrane sel spermatozoa (Einarson, 1992). Menurut Sayoko dkk. (2007) lama thawing 30 detik memberikan hasil yang lebih baik terhadap persentase spermatozoa hidup dari pada thawing selama 15 detik. Selk (2002) melaporkan bahwa untuk menghindari bahaya *cold shock* pada straw beku dilakukan thawing selama 10 hingga 60 detik menggunakan air hangat.

Begitu semen beku dithawing maka aktifitas spermatozoa akan semakin meningkat, sehingga semakin lama waktu thawing maka tingkat kematian spermatozoa akan meningkat,akibatnya akan terjadi pengulangan Inseminasi Buatan (Witarsa, 2001).

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Reproduksi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Jambi, pada tanggal 8 Mei sampai dengan 15 Juni 2014.

Rancangan Penelitian

Materi, Bahan, dan alat

Materi yang digunakan yaitu 30 straw semen beku dari pejantan sapi perah BIB Lembang. Bahan dan alat yang digunakan yaitu thermometer, mikroskop, objek glass, cover glass, container gas nitrogen cair, waterbath, mikropipet, stop watch, gunting, tisu gulung.

Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan (P1, P2, P3, P4) dan 6 kali ulangan, Adapun perlakuannya adalah P1 : Suhu kamar 60 detik, P2 : Suhu 37 °C selama 30 detik, P3 : Suhu 50 °C selama 12 detik dan P4 Suhu 70 °C selama 8 detik.

Cara Kerja

Persiapan alat. Alat-alat yang digunakan saat penelitian dipersiapkan terlebih dahulu dan selanjutnya dicuci bersih.

Pengambilan semen. Semen beku diambil dari dinas peternakan provinsi Jambi sebanyak 30 straw, kemudian dimasukkan ke dalam N^2 cair yang tertutup rapat. Lalu dibawa ke laboratorium reproduksi fakultas peternakan universitas jambi untuk dilakukan pemeriksaan motilitas spermatozoa. Sebelum melakukan pemeriksaan straw dimasukkan ke dalam waterbath dengan suhu 37 °C selama 30 detik, suhu 50 °C selama 12 detik, suhu 70 °C selama 8 detik, dan dibiarkan pada suhu kamar (suhu ruang) selama 60 detik.

Motilitas spermatozoa. Penentuan motilitas dapat dilakukan dengan cara, meneteskan 1 tetes semen ke atas objek glass kemudian ditutup dengan cover glass setelah itu diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 10x40 kemudian dilihat rata-ratanya motilitas dinyatakan dalam persen (%).

Peubah yang diamati

Peubah yang diamati adalah motilitas spermatozoa, yaitu yang bergerak progresif. Recovery Rate (RR) meupakan kemampuan pemilhan spermatozoa setelah pembekuan dengan membandingkan persentase spermatozoa motil pada semen segar dengan pasca thawing dan pasca ekuilibrasi. Recovery Rate dihitung dengan rumus :

$$RR_{segar} = \frac{\text{motilitas post thawing x 100\%}}{\text{Motilitas semen segar}}$$

$$RR_{Ekuilibrasi} = \frac{\text{motilitas post tawing x 100\%}}{\text{Motilitas pasca ekuilibrasi}}$$

Analisa Data

Analisa data menggunakan sidik ragam dan apabila terdapat pengaruh yang nyata maka dilanjutkan dengan Uji berganda Duncan untuk membandingkan rataan hasil masing-masing perlakuan menurut petunjuk Steel and Torrie (1981).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Motilitas Spermatozoa

Persentase motilitas spermatozoa sapi FH dari masing-masing perlakuan setelah metode thawing dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rataan motilitas spermatozoa sapi FH

Perlakuan	Rataan
P1	$47,3\pm0,9^{ab}$
P2	$49,5\pm1,3^{a}$
P3	$43,3\pm2,2^{c}$
P4	$30,0\pm1,8^{d}$

Superskrip dengan notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ($P<0.05$).

Pada Tabel 1. di atas menunjukkan bahwa dengan 4 perlakuan yang dilakukan dengan metode thawing yaitu suhu kamar selama 60 detik, suhu 37 °C selama 30 detik, suhu 50 °C selama 12 detik dan suhu 70 °C selama 8 detik berpengaruh nyata ($P<0.01$) terhadap motilitas spermatozoa semen beku sapi FH . pada perlakuan P2 memberikan motilitas tertinggi yaitu sebesar 49,5%. Hasil penelitian ini tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian (Pace dkk., 1981) yang menyatakan persentase motilitas tertinggi diperoleh pad suhu thawing 37 °C.

Pada perlakuan P1 dan P2 memberikan persentase motilitas spermatozoa yang lebih tinggi dari perlakuan P3 dan P4. Karena P2 pada suhu yang digunakan adalah suhu 37 °C selama 30 detik dan P1 suhu kamar selama 60 detik. Pada perlakuan P1 dan P2

ini suhu yang digunakan masih dalam keadaan suhu yang mendekati kondisi fisiologis untuk spermatozoa dibanding dengan perlakuan yang lain, sehingga motilitas spermatozoa pada suhu ini masih dalam keadaan normal. Menurut Evans dan Maxwell, (1987) menyatakan suhu thawing 37°C akan meningkatkan daya hidup spermatozoa, tetapi batas waktu kritis akan bersifat fatal pada sel spermatozoa.

Hasil rataan pada perlakuan P3 mengalami keccnderungan motilitas spermatozoa menurun, hal ini disebabkan oleh perubahan suhu yang digunakan yaitu suhu 50 °C selama 12 detik. Perubahan suhu yang tinggi dapat menyebabkan motilitas spermatozoa menurun yang disebabkan oleh kerusakan motilitas spermatozoa, kondisi spermatozoa pada l;ingkungan dengan suhu yang meningkat dapat menyebabkan penurunan motilitas dan viabilitas spermatozoa.

Pada perlakuan P4 rataan motilitas spermatozoa juga mengalami penurunan, hal ini disebabkan karena pada perlakuan P4 suhu yang digunakan adalah suhu tertinggi dibanding perlakuan yang lain yaitu pada suhu 70 °C selama 8 detik, sedangkan spermatozoa tidak dapat bertahan pada suhu yang terlalu tinggi dan waktu yang lama. Menurut Soepriondho (1985), suhu yang tinggi dalam media thawing akan menyebabkan proses metabolisme spermatozoa meninggi sehingga memerlukan energi yang tinggi pula. Pada kondisi demikian spermatozoa akan cepat kehilangan energi sehingga berakibat kematian pada spermatozoa itu sendiri. Selain itu kurang tersedianya bahan makanan untuk kebutuhan hidup spermatozoa, hal ini sesuai dengan pendapat Toelihere (1985) bahwa bahan makanan yang cukup untuk spermatozoa sangat berguna mempertahankan laju penurunan motilitas spermatozoa. Kemungkinana jika waktu thawing dengan suhu 70° C lebih cepat, maka motilitas akan lebih baik.

Pada proses pembekuan semen dapat terjadi pembentukan Kristal es pada sel spermatozoa, hal ini disebabkan karena air yang ada pada sel spermatozoa tidak keluar. Untuk mencegah agar tidak terbentuknya Kristal es, maka dapat digunakan bahan pengencer krioprotektan yaitu gliserol, yang akan menarik air keluar dari sel spermatozoa, krioprotektan akan masuk dan mencegah terbentuknya Kristal es. Pada saat thawing terjadi rehidrasi sperma, dan pengeluaran krioprotektan. Apabila krioprotektan bertahan dalam sel setelah thawing akan berefek buruk terhadap spermatozoa karena bersifat toksik.

Apabila pengeluaran krioprotektan yang berbarengan dengan masa rehidrasi tidak berlangsung sempurna dapat mengakibatkan kerusakan pada spermatozoa. Suhu tinggi dan waktu thawing yang singkat kemungkinan belum semua krioprotektan dikeluarkan dalam sel dan digantikan oleh air kembali. Dari 4 perlakuan di atas dapat dilihat perbedaan antara perlakuan P1,P2,P3, dan P4. Dengan semakin tiggi suhu yang digunakan pada proses thawing akan terjadi penurunan motilitas spermatozoa

Recovery Rate (Laju Pemulihan) Terhadap Semen Segar

Pengaruh perlakuan Recovery Rate semen segar sapi FH dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rataan Recovery Rate semen beku sapi FH pada masing – masing perlakuan setela thawing.

Perlakuan	Recovery Rate Semen Segar
P1	67,56±1,26^{ab}
P2	70,68±1,89^{a}
P3	61,90±3,13^{c}
P4	42,65±2,53^{d}

Pada Tabel 2. di atas dapat dilihat bahwa kemampuan spermatozoa untuk pulih kembali setelah pasca thawing berbeda antar perlakuan P1,P2,P3 dan P4. Dari 4 perlakuan di atas laju pemulihan tertinggi yaitu pada P2 sebesar 70,68% dan terendah pada perlakuan P4 sebesar 42,65%. Pada perlakuan P2 lebih tinggi ($P<0,01$) dibndingkan pada perlakuan P1, P3 dan P4. Hal ini menunjukkan bahwa spermatozoa lebih mampu pulih dari pembekuan pada perlakuan P2 dengan suhu 37 °C selama 30 detik.

Selain itu pada suhu yang tinggi terjadi perubahan protoplasma yang kompleks dalam kehidupan sel spermatozoa yang tidak dapat diperbaiki kembali, akibatnya terjadi kematian pada sel spermatozoa, Karena jika suhu thawing yang digunakan tidak tepat maka akan menimbulkan kerusakan pada sel spermatozoa. Oleh karena itu suhu thawing tepat sangat diperlukan untuk menghindari gangguan atau kerusakan spermatozoa akibat pemanasan yang berlebihan.

Table 3. Rataan persentase motilitas spermatozoa semen beku sapi FH dan tingkat penurunan dari semen segar ke pasca thawing.

Pengamatan	Perlakuan			
	P1	P2	P3	P4
Motilitas semen	70	70	70	70
segar (%)	47,3	49,5	43,3	30,0
Pasca thawing	22,7	20,5	26,7	40,0

(%)				
Rataan penurunan (%)				

Berdasarkan Tabel 3. Di atas bahwa motilitas spermatozoa setiap perlakuan mengalami penurunan, pada perlakuan P1 penurunan motilitas spermatozoa sebesar (22,7%), P2 (20,5%), P3 (26,7%) dan P4 (40,0%). Pada perlakuan di atas dapat dilihat tingkat penurunan motilitas pada perlakuan P2 lebih rendah dibandingkan pada perlakuan yang lain, sedangkan tingkat penurunan tertinggi diperoleh pada perlakuan P4. Hal ini disebabkan karena semakin tinggi suhu yang digunakan pada saat thawing, maka tingkat penururnan motilitas spermatozoa semakin tinggi pula. Thawing semen merupakan suatu prosedur yang sangat kritis, dan bila thawing dilakukan pada suhu yang tidak tepat akan menimbulkan kerusakan pada spermatozoa.

Recovery Rate (Laju Pemulihan) Semen Beku Pasca Ekulibrasi

Pengaruh perlakuan Racovery Rate semen beku sapi FH pasca ekuilibrasi dapat dilihat pada Tabel 4.

Table 4. recovery rate semen beku pasca ekulibrasi

Perlakuan	Recovery Rate pasca ekuilibrasi
P1	78,82±3,06^{ab}
P2	82,46±3,63^{a}
P3	72,22±3,65^{c}
P4	50,00±5,06^{d}

Pada Tabel 4. di atas bahwa recovery rate semen beku pasca ekuilibrasi pada perlakuan P2 lebih tinggi (P<0,01) dibandingkan pada perlakuan P1,P3 dan P4. Berdasarkan hasil persentase motilitas ternyata nilai recovery rate tertinggi diperoleh pada perlakuan P2 yaitu 82,46%, dan yang terendah yaitu pada perlakuan P4 sebesar 50,00%.

Kerusakan sel akibat pembekuan dapat terjadi karena dehidrasi, peningkatan konsentrasi elektrolit, serta terbentuknya Kristal es intraseluler yang dapat mempengaruhi permeabilitas dinding sel (Kwon dkk., 2002), dan pada akhirnya spermatozoa kehilangan daya motilitasnya. Hilangnya daya motilitas spermatozoa selama proses pembekuan berpengaruh terhadap laju pemulihan (*recovery rate)* sperma setelah mengalami pencairan kembali.

Table 5. Rataan persentase motilitas spermatozoa semen beku sapi FH dan tingkat penurunan Daripasca ekuilibrasi ke pasca thawing.

Pengamatan	Perlakuan			
	P1	P2	P3	P4
Pasca ekuilibrasi (%)	60	60	60	60
Pasca thawing (%)	47,3	49,5	43,3	30,0
Rataan penurunan (%)	12,7	10,5	16,7	30,0

Dari Tabel 5. Di atas dapat dilihat tingkat penurunan dari pasca ekuilibrasi ke pasca thawing pada perlakuan P1 sebesar (12,7%), P2 (10,5%), P3 (16,7%) dan P4 (30,0%). Tingkat penurunan pada perlakuan tertinggi diperoleh pada perlakuan P4.

Dari hasil penelitian terlihat bahwa thawing semen beku sapi FH pada suhu kamar selama 60 detik dan 37 °C selama 30 detik menghasilkan motilitas spermatozoa yang lebih baik dari perlakuan yang lain, sehingga tingkat penurunannya semakin rendah dibandingkan dengan hasil motilitas yang diperoleh lebih rendah, maka tingkat penurunannya semakin tinggi.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa lama dan suhu thawing mempengaruhi motilitas spermatozoa, motilitas terbaik yaitu pada suhu 37 °C selama 30 detik dan suhu kamar selama 60 detik.

DAFTAR PUSTAKA

Alfarez, J. G. and B. T. Storey. 1982 Spontnious lipid peroxidation in rabbit epididymal spermatozoa, its effect on sperm motility. Biol. Reprod. 27, 1102-1108.

Arifiantini, M.I. 2004. Proses Produksi Semen Beku Kerbau dengan system minitub. Institut pertanian Bogor. Bogor.

Correa, J.R., M.C. Rodriguez, D.J. Patterson, and P.M. Zavous. 1996. Thawing and processing of cryopreserved bovine spenautozoa at various temperatures and their effects on sperm viability, osmotic shock and sperm membrane functional integrity. Theriogenology 46 : 413-420.

Djanuar, R. 1985. Fisiologi reproduki dan inseminasi buatan pada sapi. Gadjah Mada University Press Yogyakarta.

Einarsson S. 1992. Concluding Remaks. In: Influence of thawing method on motility, plasma membrane integrity and morphology of frozenstalallion spermatozoa. Bor K, B Colenbrander, A Fazelli, J Pallevliet and L Malmgren (eds.) Theriogenology VI. 48th. 1997. Pp. 531-536.

Evans, G dan W.M.C. Maxwell. 1987. Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats. Butterworths, Sydney.

Farsstad. 1986. Semen cryopreservation in dogs and foxes. Anint. Reprod. Sci. 42 : 251-260.

Frandson, R.D. 1993. Anatomi dan Fisiologi Ternak (Anatomy and physiology of Farm Animals). Terjemahan Srig in dogs and foxes. Anint. Reprod. Sci. 42 : 251-260.

Frandson, R.D. 1993. Anatomi dan Fisiologi Ternak (Anatomy and physiology of Farm Animals). Terjemahan

Srigandono, B. dan Praseno, K. gadjah Mada University Press, Yogyakarta.

Garner, D.L. and E. S. E. Hafez. 1993. Spermatozoa and Seminal Plasma in Reproduction In Farm Animals. Edited by E. S. E. Hafez. 6th edtion. Lea and Febiger, Philadelphia.

Hafez, E.S. E. 2000. Semen Evaluation dalam E.S.E. Hafez (ed). Reproduction In Farm Animal. Lea and Febiger. Philadelphia. 144-164.

Harjopranjoto, S. 1980. Ilmu Inseminasi Buatan. Fakultas Kedokteran Universitas Air Langga. Surabaya.

Hardijanto. 2010. Buku Ajar Inseminasi Buatan. Cetakan I. Airlangga University Press. Surabaya.

Kwon, A.Y, and C.S, Park. 2002. Effect of diluent component, freezing rate, thawing time and thawing temperature on AC acrosoma morphology and motility of frozen thawed boar semen. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 15: 247-249.

Melrouse, D.R. 1983. Artificial Insemination In Cattle dalam J.P, Maule (Ed). The Semen Of Animals and Artificial Insemination. 3 rd ed, C. A. B. England. PP. 2-143.

Memon, M.A. and R.S. Ott 1981. Methods of semen preservation and artificial insemination in sheep and goats. World Rev. Anim. Prod. 11 : 19 – 25.

Partodiharjo, S. 1992. Ilmu Reproduksi Hewan. Fakultas Kedokteran Veteriner jurusan Produksi. Institute Pertanian Bogor.

Pace, M.M, J.J. Sullivian, F.I. Elliot, E.F. Graham, and G.H Coulter. 1981. Effect of thawing temperature, number of spermatozoa and spermatozoa quality on fertility of bovine spermatozoa fackaged in 0,5 ml French straws. J. Anim. Sci. 53 (3) : 693-701.

Perry, E.J. 1960. Faktor Influencing the Quality of Semen dalam E.J. Perry Ed, Artificial Insemination of Animals. Rutgers University Press, New Jersey.

Ridwan. 2008. Pengaruh Jenis Pengencer Semen Terhadap Motilitas, Abnormalitas, dan Daya Tahan Hidup Spermatozoa Ayam Buras Pada Penyimpanan Suhu 5 °C. J. Agroland. Vol. 15 (3) : 229-235.

Rusdin dan K. Jum'at. 2000. Motilitas dan Recovery Sperma Domba Dalam Berbagai Pengencer Selama Penyimpanan 5 °C. Laporan Penelitian. Fakultas Pertanian Tadukalo, Palu.

Sayoko, Y. M Hartono, dan P. E Silitonga. 2007. Factor-faktor yang mempengaruhi Persentase Spermatozoa Hidup Semen Beku Sapi pad Berbagai Inseminator di Lampung Tengah. Kumpulan Abstrak Skripsi Jurusan Produksi Ternak. Fakultas Pertanian. Universitas Lampung.

Salamon and Maxwell. 1987. Frozen Storage of Ram Semen I. Processign Freezing, Thawing and Fertility Often Cerificial Insemination. Departemen of Animal Science. University Sidney.

Salisbury and Van Demark dalam Djanuar. 1985. Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buata pada sapi. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.

Selk G. 2002. Artificial Insemination for Beef Cattle. http/www.osuextra.com. (12 Januari 2006).

Situmorang, P. 2002. The effects of Inclusion of Exogeneous Phospolipid In Trisdiluent Containing A Different Level of egg Yolk on the Viability of Bull Spermatozoa. Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan dan Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Bogor 7 (3) : 131-187.

Soephriondho , Y. 1985. Pengaruh Waktu dan Suhu Thawing Semen Beku terhadap angka konsepsi pada ternak kerbau. Tesis. Fakultas Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Sorensen, A.M. Jr.1979. dalam Hoesni, F. 1997. Pengaruh Kadar Kuning Telur Dalam Berbagai Pengencer terhadap kualitas sperma Domba Paska Pembekuan. Program Pasca Sarjana. Universitas Padjajaran, Bandung.

Steel, R. G.D and J. H. Torrie. 1981. Prinsip dan Prosedur Statiska. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

Suhartodjo. 1980. Ilmu Inseminasi Buatan. Edisi pertama. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.

Toelihere. 1994. Inseminasi Buatan pada Ternak. Penerbit Angkasa. Bandung.

_____ 1985. Inseminasi Buatan pada Ternak. Penerbit Angkasa. Bandung.

Umiyasih. U, U.K. Wardhani dan D.B. Wijono. 1993. Kualitas Semen Calon Pejantan Sapi Madura Terpilih. Sub Balai Penellitian Ternak Grati.proyek Pembangunan Penelitian Pertanian Nasional, Malang.

Witarsa, 2001. Evaluasi Semen. BIB Lembang. Bandung.