PENGARUH PENGGUNAAN METODE THAWING YANG BERBEDA TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA SEMEN SAPI PERAH BERPENGENCER TRIS SITRAT KUNING TELUR

Fachroerrozi Hoesni[1]

Abstract

The research was conducted in the laboratory of Department of Animal Husbandry UPTD Jambi Province, on March 23 to April 10, 2013. The purpose of this study was to determine the effect of temperature and duration of thawing and provide an overview of the effects of thawing method based on the use of different methods and duration of storage of spermatozoa temperature of dairy cows.

The experimental design used was a completely randomized design (CRD) with 4 treatments and 6 replications, as treatment is longer and thawing temperatures following PI; room temperature 27 ˚ C for 60 seconds, P2; temperature of 37 ˚ C for 30 seconds, P3; temperature of 50 ˚ C for 12 seconds, P4; temperature of 70 ˚ C for 8 seconds, the observed variables that sperm motility and recovery rate of the fresh cement. Data was analyzed mengguanakan analysis of variance (ANOVA).

Results of this study indicate that the thawing time and temperature affect the motility of frozen semen sap dairy (P <0,01). Each treatment on P1 thawing method: room temperature for 60 seconds, P2: temperature 37 ˚ C for 30 seconds, P3: temperature 50 ˚ C for 12 seconds and P4: a temperature of 70 ˚ C for 8 seconds. Best thawing method is the P2 treatment with optimal yield of 66.63% and is still fit for use for artificial insemination (AI).

Conclusion is thawing spermatozoa method using a temperature of 37 ˚ C for 30 seconds to show the motility of frozen semen straw worth for dairy cows (IB).

Keyword : use, thawing, spermatozoa

PENDAHULUAN

Salah satu cara yang dilakukan untuk meningkatkan populasi dan produktivitas ternak adalah melalui penerapan bioteknologi reproduksi yaitu inseminasi buatan (IB) (Rizal dan Herdis 2008). Teknik IB adalah suatu teknologi mutakhir yang diciptakan manusia guna meningkatkan produktivitas dan reproduktivitas ternak untuk mengatasi tuntutan masyarakat dunia yang terus semakin meningkat jumlahnya dari tahun ke tahun (Hardijanto dkk 2010). Penerapan bioteknologi (IB) pada ternak ditentukan oleh empat faktor utama, yaitu semen beku, ternak betina sebagai akseptor IB, keterampilan tenaga pelaksana (Inseminator) dan pengetahuan zooteknis peternak.

Cara penyimpanan semen dalam kondisi dingin (*refrigerator*) atau dalm kondisi beku (nitrogen cair). Semen hasil pendinginan (chill semen) mempunyai daya tahan relatif pendek, sedang bila disimpan dalam kondis beku memungkinkan penggunaan semen dalam jangka waktu yang lama (Suyadi, 2003). Permasalahan utama dari semen beku adalah rendahnya kualitas semen setelah dilakukan thawing. Selama proses pembekuan dapat terjadi penurunan motilitas yang disebabkan karena pengaruh pengencer atau kerusakan yang disebabkan oleh proses pembekuan (could shock). Kematian spermatozoa selama pembekuan berkisar antara 20-80% dengan rata-rata 50% (Hardijanto dkk, 2008). Untuk menghasilkan semen beku yang berkualitas tinggi dibutuhkan pengencer semen yang mampu mempertahankan motilitas spermatozoa selama proses pendinginan, pembekuan, maupun pada saat thawing (Toelihere, 1993). Semen beku adalah semen yang diencerkan menurut prosedur tertentu, lalu dibekukan jauh dibawah titik beku air (Hertoni, 2007).tantangan dalam keberhasilan IB dilapangan adalah rendahnya kualitas dan penanganan semen beku yang digunakan, kondisi reproduksi, managemen ternak dan keterampilan inseminator (Susilawati, T, dkk., 2009) kualitas spermatozoa post thawing juga dilakukan oleh kemampuan pengencer untuk melindungi spermatozoa dari cold shock, syarat-syarat pengencer harus mempunyai tekanan osmosa yang isotonik, mengandung buffer atau penyangga, mineral, zat-zat gizi yang dibutuhkan oleh spermatozoa, mengandung lipoprotein dan lisitin yang dapat melindungi sperma dari kejut dingin atau cold shock serta mengandung zat bebas bakteri (Djanuar, 1981). Tingkat kebuntingan dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain nutrisi, body condition dan post thawing motility (PTM) Hafez (2000).

Pengencer tris sitrat kuning telur telah umum digunakan dalam proses pembuatan semen beu sebagai jenis hewan. Pengencer tris kuning telur tersusun atas; tris ameno methan, asam sitrat, fruktosa, kuning telur, antibiotik, gliserol dan aquabides (Djinnennak, 2000). Tris amenomethan merupakan buffer dan dapat

[1] Dosen Fak. Perternakan Universitas Jambi

mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit. Asam sitrat selain juga berfungsi sebagai buffer mempunyai fungsi untuk mendispresikan butir-butir lemak kuning telur. Fruktosa berfungsi menyediakan zat-zat makanan sebagai sumber energi bagi spermatozoa. Kuning telur mempunyai fungsi selain buffer dan sumber energi juga sebagai kriprotektan. Antibiotik berfungsi untuk mencegah pertumbuhaan mikroorganisme, sedangkan gliserol untuk melindungi sperma terhadap efek lethal pada saat pembekuan. Hasil survei (Affandhy dkk, 2006) di kabupaten blora jawa tengah diketahui bahwa para inseminator melakukan thawing lebih dari 1 menit (>60 detik) yaitu 900-1800 detik (15-30menit) dengan menggunakan air sumur atau PDAM.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh suhu dan lama thawing dan lamanya penyimpanan suhu spermatozoa sapi perah dan manfaat dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi yang berguna bagi program inseminasi buatan dngan metode thawing pada sapi perah FH selanjutnya.

TINJAUAN PUSTAKA

Semen Sapi Perah

Inseminasi buatan (IB) adalah salah satu teknik yang dikembangkan untuk meningkatkan produksi ternak. Hal ini dimungkinkan karena dari seekor pejantan yang terpilih diambil semennya untuk diinseminasikan kepada sejumlah betina (Depison, 1996). Said (2004) menambahkan bahwa inseminasi buatan (IB) juga mencegah penularan penyakit kelamin yang mungkin terjadi dalam perkawinan alami. Sel spermatozoa terdiri dari dua bagian yaitu bagian kepala dan ekor yang diliputi membran spermatozoa. Bagian kepala berperan dalam melakukan penetrasi sel telur guna memasukkan materi genetik sedangkan bagian ekor mengandung perangkat metabolisme untuk menghasilkan energi dan merupakan perangkat alat pergerakan spermatozoa Salamon (1994).

Ternak perah adalah ternak yang dapat memproduksi susu melebihi kebutuhan anaknya dan dapat mempertahankan produksi susu sampai jangka waktu tertentu walaupun anaknya sudah disapih atau lepas susu. Produksi susu yang tinggi pada induk sedang laktasi selama bulan pertama berpengaruh terhadap bobot tubuh induk dan dapat mengakibatkan penurunan bobot tubuh selama bulan pertama setelah melahirkan (berkisar antara 15-16 %). Darmadja (1980) penurunan bobot tubuh ini disebabkan oleh beberapa faktor misalnya nutrisi induk selama sebelum dan sesudah beranak, musim beranak dan cara pemliharaan. Kehilangan bobot tubuh selama laktasi sepenuhnya normal sehingga diperlukan energi tersedia yang tinggi untuk produksi susu tanpa menyebabkan beban berlebihan pada sistem pencernaan. Perlunya tata laksana pemberian pakan yang baik pada saat bunting dan laktasi agar tersedia cadangan yang cukup pada waktu beranak dan mencegah kehilangan bobot tubuh yang berlebihan selama laktasi Sudono (1999).

Efisiensi produk susu berhubungan dengan efisiensi pemberian pakan dan produksi susu. Produksi susu dipengaruhi oleh faktor genetik dan lingkungan termasuk manajemen dan pemberian pakan. Metode yang umum ditempuh untuk meningkatkan produksi adalah melalui perbaikan managemen dan pemberian pakan. Faktor-faktor lain mempengaruhi tinggi rendahnya produksi susu pada ternak adalah ukuran dan bobot badan induk, umur, ukuran dan pertautan ambing, pertumbuhan, jumlah anak lahir perkelahiran dan suhu lingkungan Ernawani (1991). Volume semen sapi merupakan salah satu standar minimum untuk evaluasi kualitas semen yang akan digunakan untuk inseminasi buatan, volume semen sapi berkisar antara 5-8 ml/ejakulasi Garner dan Hafez (2000). Volume semen akan bertambah sesuai umur, besar tubuh, tingkatan makanan, perubahan keadaan kesehatan reproduksi, frekuensi penampungan dan akan menurun sesudah mencapai puncak dewasa (Salisbury dan Van Demark, 1985; Toelihere, 1993). Penelitian Mathevon (1998) menunjukkan bahwa faktor genetik dapat mempengaruhi volume semen yang menunjukkan pada nilai heritabilitas dan ripitabilitasnya.

Sapi-sapi yang secara genetik baik akan memberikan produksi susu yang baik pula. Akan tetapi, jika makanan yang diberikan tidak memadai, baik dari segi jumlah maupun mutu, maka untuk memenuhi kebutuhan pokok hidup dan berproduksi akan dicukupi dengan mengorbankan persediaan zat-zat makanan yang tersimpan di dalam jaringan tubuhnya. Jika sapi yang bersangkutan kehabisan zat-zat makanan yang harus dimobilitaskan, maka produksi susu akan menurun yang akhirnya akan membatasi pula sekresi air susu. Jumlah pemberian pakan hijauan konsentrat dapat mempengaruhi jumlah produksi suhu dan kadar lemak. Kualitas dan kuantitas pakan yang diberikan harus sesuai dengan kebutuhan atau memenuhi hidup pokok, produksi susu, pertumbuhan, dan kebuntingan sehingga akan dicapai produksi susu yang

optimal (Anomina, 2006).

Semen Beku

Semen beku adalah semen yang telah diencerkan dan selanjutnya dibekukan pada suhu tertentu yang bertujuan untuk menghambat aktifitas dan metabolisme spermatozoa. Keuntungan semen beku menurut Toelihere (1981) adalah semen yang berasal dari pejantan unggul dapat dipakai secara efisien sepanjang tahun, dapat mengatasi hambatan waktu dan jarak, memungkinkan perkawinan yang selektif dengan pejantan unggul untuk wilayah yang luas, biaya pengangkutan relatif lebih murah. Namun masih menurut sumber yang sama kerugian dari semen beku adalah terdapat 10-20 % sapi jantan menghasilkan semen yang tidak tahan terhadap pembekuan, harga semen beku yang lebih mahal baik biaya produksi maupun penyimpanannya, selama proses pembekuan terjadi 20 sampai 80 % dengan rata-rata 50 % spermatozoa akan mati, apabila kesehatan jantan tidak dipertahankan maka semen beku akan berpotensi untuk menyebaarluaskan penyakit baik viral maupun bakteri serta pemakaian semen beku secara besar-besaran akan membatasi jumlah pejantan yang dipakai dan mungkin akan mempersempit dasar generik suatu bangsa tertentu.

Untuk mempertahankan kehidupan spermatozoa maka semen beku harus selalu disimpan dalam bejana vakum atau container berisi nitrogen cair yang bersuhu -196˚C dan terus dipertahankan pada suhu tersebut sampai waktu dipakai. Semen beku yang sudah dicairkan kembali tidak dapat dibekukan kembali. Oleh karena itu untuk menjamin fertilitas yang tinggi maka harus dipastikan bahwa semen yang sudah dicairkan kembali harus dipakai untuk inseminasi segera sesudah *thawing* (Toelihere, 1993). Menurut Salisbury Van Denmark (1985) menyatakan bahwa pengawetan semen dapat dilakukan dengan dua cara yaitu dengan menyediakan ion-ion esensial, zat makanan, enzim-enzim, koenzim-koenzim dan vitamin serta secara kontinyu membuang sisa metabolisme yang membatasi kehidupan spermatozoa dengan menghambat secara fisik dan kimiawi semua aktifitas sampai tingkat minimal didalam spermatozoa. Pembekuan semen sebagai metode pengawetan harus memperhatikan keadaan lingkungan spermatozoa yang meliputi suhu, tekanan osmotik, pH, sumber energi, pengawasan bakterial, pengamanan bahan toksik dan penetralan produk-produk metabolisme.

Kualitas Semen

Menurut Toelihere (1981) bahwa pemeriksaan umum semen meliputi volume semen yang langsung terbaca pada tabung penampung yang berskala warna, semen sapi normal berwarna seperti suhu atau krem keputihan dan keruh, konsistensi. Standar minimum bagi kualitas semen segar yang dapat dipakai untuk inseminasi buatan adalah minimum mengandung 500 juta sel/ml ejakulet dan 50 % spermatozoa hidup dan aktif (Toelihere, 1981). Segera sesudah penampungan dilakukan pemeriksaan umum terhadap ejakulet didalam tabung penampungan (Salisbury Van demark, 1985). Pemeriksaan terdiri dari pengamatan terhadap warna, kekentalan semen, gelombang massa dan pencatatan volume. Selanjutnya secara terperinci Toelihere (1981) menjelaskan bahwa karakteristik semen dapat digunakan sebagai indikator dari fertilitas.

Robert (1971) yang dikutip oleh Toelihere (1981) mengklasifikasikan kelainan morfologik spermatozoa dalam dua kelompok yaitu abnormalitas primer dan abnormalitas sekunder. Abnormalitas primer meliputi kepala kecil, kepala besar atau miring, kepala kembar, ekor bercabang, leher besar dan melipat Partodihardjo (1992). Sedangkan abnormalitas sekunder meliputi ekor terputus, kepala tanpa ekor, bagian tengah melipat, adanya butiran-butiran protoplasma proksimal atau distal dan akrosom terlepas Toelihere (1981). Spermatozoa yang berbentuk abnormal tidak dapat membuahi ovum, tidak peduli apakh abnormalitas tersebut terjadi didalam tubuh seminiferi (abnormalitas primer) atau didalam saluran kelamin jantan dan sewaktu ejakulasi (abnormalitas sekunder). Selama abnormalitas sperma belum mencapai 20 % dari contoh semen, maka semen tersebut masih dapat dipakai untuk inseminasi buatan Toelihere (1981).

Pengencer Tris Sitrat Kuning Telur

Pengencer yang telah dipakai secara luas yaitu yang mengandung kuning telur sebab bahan tersebut tersedia setiap saat dan setiap daerah. Penggunaan kuning telur ditujukan untuk melindungi spermatozoa dari kejut dingin dengan daya melindung terletak pada lingkungan lipoprotein dan lesitin yang bekerja pada selubung sel spermatozoa, guna mempertahankan dan melindungi intergrasi selubung lipoprotein spermatozoa Foote (1983).

Tris mempunyai kemampuan dalam memberikan motilitas spermatozoa yang lebih tinggi, karena Tris lebih banyak mengandung

zat-zat makanan antara lain, fruktosa, asam sitrat yang dapat berperan sebagai buffer dan meningkatkan aktifitas spermatozoa (Fachroerrozi, 1997). Keuntungan pengencer tris adalah dapat dicampur langsung dengan seluruh volume pengencer secara perlahan-lahan pada suhu 25˚C - 30˚C.

Motilitas Spermatozoa

Salah satu pengujian spermatozoa yang jelas dan mudah adalah motilitas. Motilitas dapat diamati berdasarkan persentase spermatozoa yang motil dan kualitas pergerakannya. Walaupun spermatozoa tidak memerlukan kemampuan bergerak dari tempat diposisi ketempat fertilisasi, namun motilitas diperlukan pada bagian tertentu misalnya pada saat melewati mukosa uterus (Hunter, 1992).

Motilitas spermatozoa berpusat pada bagian ekor karena pada bagian ini terdapat dua fibril sentrial yang dikelilingi oleh sebuah cincin terdiri dari sembilan pasang fibril ferifel, dimana fibril-fibril ini mampu menggerakan ekor spermatozoa yang bersifat kotraktil Toelihere (2006). Agar dapat melakukan pergerakan spermatozoa membutuhkan energi, energi yang diperlukan melalui kerja enzim dimitokondria yang menggerakkan siklus asam kalboksilat (siklus kreb), trasport elektron fosforilasi oksidatif berguna untuk menghasilkan energi dalam bentuk ATP atau merubah fruktosa menjadi asam laktat (Hunter, 1992). Persentase motif progresif merupakan indikator penting untuk mengetahui kemampuan fertilitas (Hafez, 1993). Ditambah Djanuar (1985) motilitas spermatozoa sapi berkisar antara 50 – 80 % dengan gerakan motif progresif dinyatakan fertil.

Salisbury Van demark (1985), menyatakan bahwa umumnya terdapat tiga bentuk motilitas spermatozoa yaitu gerak ditempat, gerak melingkar dan gerak maju (motif progresif), motilitas spermatozoa berpusat dibagian ekor, karena dibagian ini terdapat dua fibril sentriol yang dikelilingi oleh sebuah cincin yang terdiri dari sembilan pasang fibril ferifer, dimana fibril inilah yang menggerakkan ekor spermatozoa yang bersifat kontraktil. Frandson (1993) menyatakan bahwa agar dapat melakukan pergerakan, spermatozoa membutuhkan energi. Energi dihasilkan melalui kerja enzim dimitokondria yang menggerakkan siklus triboksilat (siklus kreb), transport electron fosforilisasi oksidatif yang menghasilkan energi dalam bentuk ATP atau berfungsi merubah fruktosa menjadi asam laktat menurut Frandson (1996).

Toelihere (1994), menyatakan bahwa gerakan melingkar dan gerakan mundur sering merupakan tanda-tanda *cold shock* atau media yang tidak isotonis dalam semen. Umaiyasih (1993) menyatakan bahwa persentase motilitas spermatozoa yang ditujukan oleh persentase gerakan individu kurang dari 40% menunjukkan bahwa kualitas semen kurang baik, bila motilitas spermatozoa berkisar antara 50-80% dengan gerakan motif progresif dinyatakan fertil. Fachroerrozi (1997), bahwa motilitas spermatozoa meningkat sejalan dengan meningkatnya pemakaian kadar kuning telur, pemakaian kuning telur yang menghasilkan motilitas tertinggi yaitu 22,5%.

Metode Thawing

Thawing (pengenceran produk beku) atau proses pencairan kembali semen beku mempengaruhi kualitas spermatozoa, karena dengan faktor ini menentukan jumlah spermatozoa yang hidup dan mati serta dapat membuahi sel telur yang telah diovulasikan Robbins dkk (1976) dalam Frandson (1996). Semen beku yang di *thawing* pada suhu yang tidak tepat akan mempengaruhi kualitas spermatozoa dan mempengaruhi frtilitas. Oleh karena itu perlu diperhatikan suhu thawing agar tingkat kematian spermatozoa yang tinggi sesudah thawing melalui pengaruh panas yang berlebihan dapat dihindarkan.

Thawing semen beku menjadi salah satu faktor yang sangat menentukan karena menurut Evarns dan Maxwell (1976), *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 spai perah. Suhu thawing diatas 37˚C akan meningkatkan daya hidup spermatozoa, tetapi bila melebihi batas waktu kritis akan bersifat fatal pada sel spermatozoa (Evarns dan Maxwell, 1987).

Menurut Parks dan Graham (1992) proses pendinginan dan pencairan kembali mempunyai pengaruh terhadap kelangsungan hidup spermatozoa. Pengaruh tersebut apakah pada tingkat pendinginan cukup tinggi untuk menginduksi pembekuan intraseluler atau cukup rendah untuk menyebabkan dehidrasi.

Metode thawing semen beku menjadi salah satu faktor yang sangat menentukan karena menurut Evans dan Maxwell (1976) 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, dilain pihak metode thawing di beberapa pustaka sangat beragam sehingga mengakibatkan penggunaan metode thawing dilapangan sangat beragam pula. Untuk menghasilkan kualitas semen yang baik Direktorat Jendral Peternakan membuat standarisasi metode thawing yaitu penggunaan air suhu 37˚C selama 30 detik. Namun faktor kemudahan pelaksanaan menjadi pertimbangan inseminator dalam pelaksanaan thawing.

Metode thawing semen beku menjadi salah satu faktor yang sangat menentukan karena menurut Evans dan Maxwell (1976) 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. Menurut Toelihere (1993), untuk menghasilkan semen beku yang berkualitas tinggi dibutuhkan bahan pengencer semen yang mampu mempertahankan kualitas spermatozoa selama proses pendinginan, pembekuan maupun pada saat thawing. Semen yang tidak diencerkan, sukar mempertahankan hidupnya lebih dari 24 jam, walaupun disimpan dalam suhu rendah, karena spermatozoa yang senantiasa bergerak aktif, maka cadangan energi didalam semen yang tidak diencerkan akan cepat habis digunakan. Setiap jenis pengencer umumnya memiliki komponen yang berbeda sehingga dari setiap pengencer memiliki kemampuan dan cara yang berbeda dalam mendukung kelangsungan hidup spermatozoa (Hardijanto and Aiman, 2010).

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium UPTD Dinas Peternakan Provinsi Jambi pada tanggal 23 Maret sampai dengan 10 April 2013.

Rancangan Penelitian

Materi, Bahan dan Alat

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 30 straw semen beku sapi perah dari BIB singosari. Bahan dan alat yang digunakan adalah kontainer N2 cair, mikro pipet, gunting, water bath, mikroskop, pinset, gelass objek, cover gelas, tissu gulung, thermometer dan cawan petri.

Rancangan Percobaan

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 6 ulangan. Adapun perlakuan adalah 4 metode thawing terdiri dari, P1 : suhu kamar 25˚C selama 60 detik, P2 : suhu 37˚C selama 30 detik, P3 : suhu 50˚C selama 12 detik, P4 : suhu 70˚C selama 8 detik.

Cara Kerja

Persiapan Alat, alat-alat digunakan saat penelitian dipersiapkan terlebih dahulu dan selanjutnya dicuci bersih yaitu cover glass, objek glass, gunting, waterbath dan cawan petri.

Pengambilan semen, Semen diambil dari Dinas Peternakan Provinsi Jambi sebanyak 30 straw semen beku atau yang telah jadi, kemudian dimasukkan kedalam tabung kontainer N2 cair yang tertutup rapat, lalu dibawa ke Laboratorium UPTD Dinas Peternakan Provinsi Jambi untuk dilakukan pemeriksaan motilitas spermatozoa. Straw diambil dari dalam tabung container dengan menggunakan gunting dan tabung di tutup kembali dan sebelum melakukan pemeriksaan straw dimasukkan ke dalam waterbath dengan suhu kamar 27˚C selama 60 detik, suhu 37˚C selama 30 detik, suhu 50˚C selama 12 detik, dan suhu 70˚C selama 8 detik.

Motilitas Spermatozoa, penentuan motilitas dapat dilakukan dengan cara, meneteskan 1 tetes semen yang telah dicairkan diatas objek gelas kemudian ditutup dengan cover gelas setelah itu diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 10x40 kemudian dilihat pergerakannya sebanyak delapan pandang, hasil diambil angka rata-ratanya motilitas dinyatakan dalam persen (%).

Peubah Yang Diamati

Peubah yang diamati adalah motilitas spermatozoa dan Recovery Rate (pemulihan kembali).

Penghitungan Recovery Rate

Recovery Rate semen segar dihitung dengan cara membandingkan motilitas spermatozoa setelah pembekuan dengan motilitas semen segar dari BIB Singosari dikalikan 100 % (Han dkk, 2005). Adapun rumus Recovery Rate adalah:

$$\text{RR semen beku} = \frac{\text{Persentase Motilitas Spermatozoa Setelah Thawing}}{\text{Persentase Motilitas Spermatozoa Semen Segar}} \times 100\ \%$$

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis ragam (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang digunakan, jika terdapat perbedaan yang sangat nyata maka akan dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan (Steel and Torrie, 1991).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Motilitas Spermatozoa Post Thawing

Rataan persetaas motilitas spermatozoa sapi perah dapat dilihat pada Tabel 1 berikut.

Tabel 1. Rataan Persentase Motilitas Spermatozoa Sapi Perah

Perlakuan	Rataan Standar Deviasi
P1	55,63±1,88 ^{BC}
P2	66,63±2,85 ^{A}
P3	59,48±1,71 ^{B}
P4	22,39±2,46 ^{D}

Ket: Huruf besar yang berbeda pada kolom yang sama untuk baris yang berbeda menunjukkan erbedaan yang sangat nyata (P<0,01).

Hasil Tabel 1 terlihat bahwa motilitas spermatozoa *post thawing* terbaik terdapat pada P2 kemudian diikuti P3 dan P1 dan motilitas spermatozoa terendah terdapat pada P4.

Hasil dari Tabel 1 diatas terlihat bahwa rataan motilitas spermatozoa yaitu : P1 (55,63%), P2 (66,63%), P3 (59,48%) dan P4 (22,39%). Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa motilitas spermatozoa dari semen beku sapi perah berpengencer tris sitrat kuning telur diperlakukan dengan 4 metode thawing sangat berbeda nyata (P,0,01), penggunaan metode thawing yang tidak tepat akan menyebabkan kerusakan spermatozoa sehingga akan menurunkan kualitas semen Proses thawing dapat mempengaruhi stabilitas dan fungsi-fungsi hidup membran sel spermatozoa (Frandson, 1993). Tabel 1 menunjukkan bahwa post thawing pada semen beku sapi pearah FH mempunyai nilai tertinggi pada perlakuan P2 dengan nama thawing suhu 37˚C selama 30 detik memberikan hasil optimal dan berbeda sangat nyata, hasil penelitian menunjukkan pada perlakuan P4 suhu 70˚C selama 8 detik menimbulkan hasil yang paling rendah. Hal ini diduga bahwa data ini menunjukkan semaki tinggi suhu dan lama ke 4 metode thawing menyebabkan perbedaan motilitas pasca thawing. (Frandson, 1993) bahwa dengan lama waktu yang digunakan menyebabkan terjadinya proses metabolisme yang mengakibatkan berkurangnya zat-zat makanan bagi spermatozoa serta menghasilkan asam laktat dan terjadi perubahan derajat keasaman sehingga terjadi kurangnya daya gerak (Motilitas) atau daya energinya berkurang tetapi suhu sudah cukup untuk mencairkan sehingga krioprotektan dalam sel spermatozoa itu belum bisa dikeluarkan seluruhnya, akibatnya mengganggu metabolisme spermatozoa tidak bisa digunakan untuk bergerak. Daya tahan spermatozoa dipengaruhi oleh pH semen, semakin rendah atau semakin tinggi dari pH normal akan membuat spermatozoa lebih cepat mati Abdillah (1996). Perubahan pH kearah yang asam (<7,0) terjadi akibat penimbunan asam laktat yang merupakan hasil akhir metabolisme, yakni pemecahan fruktosa (fruktolisis) dalam keadaan anaerob, penimbunan asam laktat ini merupakan racun bagi spermatozoa.

Pada pembekuan semen akan terbentuk kristal-kristal es atau terjadi penumpukan elektrolit serta zat-zat lain didalam sel spermatozoa yang bersifat mematikan. Kematian ini terjadi pada suhu kritis -1,5˚C, sedangkan semen beku akan membeku pada suhu -0,53˚C Hardijanto dan Aiman (2010). Menurut Kwon dan Face (2002), kerusakan sel akibat pembekuan dapat terjadi karena dehidrasi, peningkatan konsentrasi elektrolit, serta terbentuknya kristal es intraseluler yang dapat mempengaruhi permeabilitas dinding sel dan pada akhirnya spermatozoa kehilangan daya motilitasnya. Arifiantini (2004), menyatakan bahwa motilitas spermatozoa setelah thawing minimal 40%, jika kurang dari 40% maka semen beku tersebut tidak layak diinseminasikan.

Dari Tabel 1 dapat diketahui pada perlakuan P3 (suhu 50˚C selama 12 detik) motilitas spermatozoa masih 59,48 %, berarti yang layak digunakan untuk inseminasi buatan yakni pada perlakuan P1 (suhu kamar 27˚C selama 60 detik), P2 (suhu 37˚C selama 30 detik) dan P3 (suhu 50˚C selama 12 detik). Pada proses pembekuan, jumlah spermatozoa yang motil setelah pembekuan (post thawing motility) sebesar 40%. Persentase motilitas spermatozoa setelah thawing ini masih layak digunakan pada program inseminasi buatan (IB), yang sesuai dengan standar prosedur pembekuan semen di Balai Besar Inseminasi Buatan Singosari. Selama pembekuan terjadi penurunan persentase motilitas karena terjadi kerusakan membran spermatozoa. Perbedaan kondisi temperatur pada saat pembekuan dan pasca thawing menyebabkan kematian sel.

Recovery Rate (Laju Pemulihan) terhadap Semen Segar

Pengaruh perlakuan terhadap Recovery Rate semen beku sapi perah dapat dilihat pada Tabel 2 di bawah ini.

Tabel 2. Rataan Recovery Rate Semen Beku Sapi Perah

Perlakuan	Pasca Thawing (Post Thawing)	Recovery Rate semen segar

P1	55,64±1,88^{B}c	51,18±1,85c
P2	66,63±2,85^{A}	55,52±2,82^{A}
P3	59,48±1,71^{B}	50,33±1,71^{B}
P4	22,39±2,46^{D}	21,43±2,35^{D}

Keterangan : Angka yang diikuti huruf besar pada kolom yang sama berarti berbeda sangat nyata (P<0,01).

Recovery Rate (RR) adalah kemampuan pemulihan spermatozoa setelah pembekuan dengan membandingkan persentase sperma motil pada semen segar dengan pasca thawing (Garner dan Hafez, 2000). Hasil penelitian menunjukkan bahwa motilitas dan RR atau pemulihan spermatozoa setelah pembekuan pasca thawing pada perlakuan P2 memberikan hasil optimal dan berbeda sangat nyata, lebih tinggi dibandingkan denngan perlakuan P3, dan P1 (P<0,01).

Perlakuan P4 ini mengahilkan hasil yang terendah (P<0,01) karena waktu yang digunakan tidak cukup memang singkat karena lamanya waktu akan terjadi kematangan pada sperma dan suhunya sudah cukup untuk mencairkan tetapi belum bisa dikeluarkan seluruhnya akibatnya mengganggu metabolisme sperma. Berdasarkan Tabel 2 terlihat bahwa RR atau laju pemulihan spermatozoa sapi perah tertinggi diperoleh pada perlakuan P2 sebesar (55,52%) dibanding perlakuan P3 (50,33%), P1 (51,66%), dan perlakuan P4 (21,43%). Hal ini diduga semakin tinggi suhu dan lama waktu yang digunakan pada saat pasca thawing maka RR yang dihasilkan semakin rendah atau berkurang, kemungkinan dengan adanya peningkatan suhu dan waktu menyebabkan kerusakan sel dan lipoprotein yang ada pada membran spermatozoa selama proses pembekuan dan thawing. Keberhasilan inseminasi buatan memiliki persyaratan mutu yaitu semen beku tidak mengandung mikroorganisme penyebab penyakit menular, semen beku sesudah dicairkan kembali (post thawing) pada suhu antara 37-38˚C selama 15 detik – 30 detik harus menunjukkan motilitas spermatozoa minimal 30% dan derajat gerakan individu spermatozoa minimal 2 (Hafez, 2000).

Menurut Kwon dkk (2002), kerusakan sel akibat pembekuan dapat terjadi dehidrasi, peningkatan konsentrasi elektrolit, serta terbentuknya kristal es intraseluler yang dapat mempengaruhi permeabilitas dinding sel dan pada akhirnya spermatozoa kehilangan daya motilitasnya. Hilangnya daya motilitas spermatozoa selama proses pembekuan akan berpengaruh terhadap RR spermatozoa setelah mengalami pencairan kembali.

Selanjutnya dikatakan pula bahwa semen yng dibekukan akan mengalami kerusakan sekitar 40% Garner dan Hafez (2000). Kerusakan sel selama proses pembekuan dan thawing disebabkan oleh terjadinya peroksidasi lipid pada spermatozoa sehingga dapat menurunkan daya hidup Alfarez dan Storey (1982). Pendinginan dan pemanasan kembali akan merusak lipoprotein yang ada pada membran sperma. Persentase sperma motil pasca thawing minimal 30 % untukdapat diinseminasikan (Campbell, 2003). Jadi berdasarkan teori ini semen dengan semua jenis suhu dan waktu yang dipakai masih layak digunakan dalam inseminasi buatan. Hal ini terlihat pada Tabel 2 yang menunjukkan persentase sperma motil pasca thawing rata-rata lebih dari 35 % yang kurang dari 40 % terdapat padaperlakuan P4 (suhu 70˚C selama 8 detik) sebesar 47,98 % dan masih layak digunakan untuk IB.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa metode *thawing* spermatozoa dengan menggunakan motilitas straw semen beku sapi perah sebesar 66,63 % dan masih layak digunakan untuk inseminasi buatan (IB).

Saran

1. Bahwa waktu efektif dan suhu optimal untuk *thawing* pada semen beku sapi sebaiknya menggunakan suhu normal yaitu 37˚C selama 30 detik.
2. Jika melakukan penelitian *Post Thawing* spermatozoa suhu 70˚C sebaiknya waktunya lebih rendah/dipersingkat, karena 70˚C dengan waktu yang lama akan merusak organ sel sapi tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

Balai Inseminasi Buatan Lembang. 1977. Proses Semen Sapi Departemen Pertanian. Direktur Jenderal Peternakan. Bandung.

----------. 2003. Proses Pembekuan Semen Sapi. Departemen Pertanian Direktur Jenderal Peternakan. Bandung.

Cole, H. H and PT. Copps. 1977. Reproduction In Domestic Animals Academic Press. London.

Fachroerrozi, H. 1977. Tesis. Pengaruh Kadar Kuning Telur Dalam Berbagai Pengencer Terhadap Kualitas Sperma Domba Pasca Pembekuan Universitas Padjadjaran. Bandung.

Frandsson, R. D.1993. Hubungan antara

deposisi semen dalam uterus dengan tingkat
keberhasilan inseminasi buatan pada ternak sapi. Media 21(4): 8 – 12.

Frandsson, R. D.1996. Anatomi dan Fisiologi Ternak (Anatomy and Physiologi of Farm
Animal). Terjemahan Srigandono, B dan Praseno, K. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.

Foote, RH. 1994. Komponen Pelindung Sperma Yang Terdapat Pada Kuning Telur dan Susu
Skim. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.

Foote, RH. 1983. Artificial Insemination. Dalam ESE Hafez ed Reproduction in Farm
Animal. Sith Ed. Lea and Febiger. Philadelphia.

Garner, D . L. E and S. E. Hafez. 2000. Spermatozoa and Seminal Plasma. In: Reproduction
in Farm Animals. 7 th Ed B Hafez ESE Hafez. Lippincott Williams & Wilkins. USA.
96-109.

Hardijanto. 2008. Ilmu Inseminasi Buatan. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas
Airlangga. Surabaya.

Hardijanto dan Aiman. 2010. Reproduksi dan Konservasi Hewan. Bag. Reproduksi dan
Kebidanan. FKH.UGM. Yogyakarta.

Hafez. E.S.E. 1987. Reproduction in Farm Animals. 5TH . Ed. Lea and Febiger. Fhiladelphia.

Kwon and Face. 2002. Reproduksi dan Embriologi. Penerbit Angkasa. Bandung.

Rammanof. 1983. Avian Egg. John Willey and Sons. New York.

Rizal and Herdis. 2008. Penerapan Teknologi Inseminasi Buatan Untuk Pelestarian Sumber
Daya Ternak Kerbau Belang. Disertasi. Fakultas pascasarjana institut pertanian bogor.
Bogor.

Robbins. 1976. Metode Pemberian Gliserol dan Lama Ekuilibrasi pada Proses Pembekuan
Semen Kerbau Lumpur. Tesis. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Robert. 1997. Program Inseminasi Buatan Sebagai Pendukung Usaha Peternakan. Mafaterna,
Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, Malang.

Salamon. 1994. Dasar Perancangan Percobaan. Dani Abadi. Surabaya.

Said. 2004. Pembuahan Buatan. Balai Penerbitan Indonesia. Jakarta.

Susilawati T. 2005. Tingkat Keberhasilan Kebuntingan dan Ketepatan Jenis Kelamin Hasil
Inseminasi Buatan Menggunakan Semen Beku Sexing pada sapi Peranakan Ongole.
Animal Production. Jurnal Produksi Ternak. ISSN 14112027 Terakreditasi No
26/DIKTI/kep/2005. Volume 7, Nomor 3, September 2005 : 161 – 167.

Salisbury, G. W dan N. L Van Demark, 1985. Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Ternak, Terjemahan oleh R. Januar.

Steel, R. G. D and G. H. Torrie. 1991. The Artificial Insemination of Farm Animal. Rutgers University Press. New Brunswick dan New Jersey.

Suyadi. 2001. Pengaruh suhu dan waktu penyimpanan semen beku sapi FH *post thawing*
terhadap kualitas sperma post kapasitasi. *J. Tropical Animal.* Special Edition. (April)
2001: 85-90.

Toelihere. M. R. 1993. Fisiologi Reproduksi Pada Ternak. Angkasa, Bandung.

Toelihere. M. R. 1981. Pengaruh Suhu dan Lama *Thawing* Semen Beku terhadap Motilitas
dan Persentase Spermatozoa Hidup pada Sapi Limousin. Skripsi Sarjana Peternakan.
Angkasa Bandung.

Toelihere. M. R. 2006. Pokok-pokok pikiran tentang perkembangan bioteknologi reproduksi
di masa lalu, masa kini dan masa yang akan datang dalam menunjang pembangunan
peternakan di indonesia. Seminar Nasional Peranan Bioteknologi Reproduksi dalam

Pembangunan Peternakan di Indonesia. Fakultas Kedokteran Hewan – IPB, Bogor 8 April 2006.

Umaiyasih, NK., Wardhani. Db., Wijoyo. 1993. Kualitas Semen Calon Pejantan Sapi Madura Terpilih. Sub Balai Penerbitan ternak. Grati. Malang.

Pace and Klarie. 1981. Applied Animal Reproduction. 6 th ed, Pearson Education, New Jersey.

Susilawati T, Kuawati dan Taufik. 2009. Peningkatan Keberhasilan Inseminasi Buatan Mengguanakan modiffied Insemination pada sapi Peternakan Ongole. Animal Production. Jurnal Produksi Ternak. ISSN 1411-2027 Terakreditasi No 26/DIKTI/kep/2005. Volume 7, Nomor 3, Februari 2009 : 161-167.

Park, E. J. And J. K. Graham. 1992. Effect of Cryopreservation Procedures on Sperm Membranes. Theriogenology 37 : 1147-1154.

Price A., Lucas PW. Lea PJ. 1990. Age Dependent Damage and Glutathione Metabolism in Ozone Fumigated Barley: a Leaf Section Approach. Dalam Jurnal of Experimental Botany, 41 : 1309-1317.