Jurnal Ilmiah Universitas Batanghari Jambi
Volume 26, Issue 01, Februari 2026, 338-341
Webite: https://ji.unbari.ac.id, E-Mail: jiubj.unbari@gmail.com
e-ISSN: 2549-4236 (Online), p-ISSN: 1411-8939 (Print), DOI: 10.33087/jiubj.v26i1.6469

Kualitas Semen Beku Sapi Limousin pada Permukaan Nitrogen Cair dengan Jarak yang Berbeda Pasca Thawing

Fachroerrozi Hoesni, Farizal*, Firmansyah, Afzalani, Tata Muthia
Program Studi Peternakan Fakultas Peternakan Universitas Jambi
*Correspondence: farizal@unja.ac.id

ABSTRAK
Penelitian ini dilaksanakan untuk mengevaluasi kualitas semen beku sapi Limousin setelah thawing yang ditempatkan pada permukaan nitrogen cair dengan variasi jarak berbeda. Metode yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri atas 6 perlakuan dan 5 kali ulangan. Perlakuan meliputi P0 sebagai kontrol (straw tetap direndam dalam nitrogen cair), P1 (straw diangkat 5 cm di atas permukaan N_2 cair), P2 (10 cm), P3 (15 cm), P4 (20 cm), dan P5 (25 cm). Penelitian berlangsung selama satu bulan, yaitu dari 27 Oktober 2023 hingga 27 November 2023, dan dilaksanakan di Laboratorium Dinas Tanaman Pangan, Hortikultura, dan Peternakan Provinsi Jambi. Parameter yang diamati mencakup motilitas, viabilitas, serta abnormalitas spermatozoa. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis ragam (ANOVA), dan apabila menunjukkan pengaruh nyata, dilanjutkan dengan Uji Duncan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan penempatan semen beku sapi Limousin pada permukaan nitrogen cair berpengaruh terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa, namun tidak berpengaruh terhadap tingkat abnormalitas. Penurunan motilitas dan viabilitas teramati pada perlakuan P4 dan P5. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa penempatan semen beku sapi Limousin pada ketinggian 15 cm di atas permukaan nitrogen cair selama 30 detik masih mampu mempertahankan kualitas spermatozoa.

Kata Kunci: motilitas, viabilitas, abnormarlitas, straw

ABSTRACT
This study was conducted to evaluate the quality of frozen Limousin cattle semen after thawing, placed on a liquid nitrogen surface with varying distances. The method used was a Completely Randomized Design (CRD) consisting of 6 treatments and 5 replications. The treatments included P0 as a control (the straw remained immersed in liquid nitrogen), P1 (the straw was raised 5 cm above the liquid N_2 surface), P2 (10 cm), P3 (15 cm), P4 (20 cm), and P5 (25 cm). The study lasted for one month, from October 27, 2023, to November 27, 2023, and was conducted at the Laboratory of the Food Crops, Horticulture, and Animal Husbandry Service of Jambi Province. The parameters observed included motility, viability, and spermatozoa abnormalities. The data obtained were analyzed using analysis of variance (ANOVA), and if it showed a significant effect, it was continued with the Duncan Test. The results showed that placing frozen Limousin cattle semen on a liquid nitrogen surface affected sperm motility and viability, but did not affect the level of abnormalities. A decrease in motility and viability was observed in treatments P4 and P5. Therefore, it can be concluded that placing frozen Limousin cattle semen at a height of 15 cm above the liquid nitrogen surface for 30 seconds can still maintain sperm quality.

Keywords: *motility, viability, abnormality, straw*

PENDAHULUAN

Di pasaran, sapi Limousin dikenal sebagai salah satu pejantan unggul dan menjadi favorit dalam usaha penggemukan karena memiliki laju pertambahan bobot badan yang relatif tinggi, yakni sekitar 1,1 kg per hari. Kondisi ini menjadikan sapi Limousin sangat potensial untuk usaha penggemukan serta pengembangan peternakan di Indonesia (Sugeng, 1998). Pemanfaatan sapi Limousin juga merupakan salah satu strategi untuk meningkatkan produktivitas ternak lokal, antara lain melalui penerapan program Inseminasi Buatan (IB).

Semen beku memiliki kelebihan karena dapat disimpan dan dimanfaatkan dalam jangka waktu yang relatif lama. Namun demikian, proses pembekuan dapat menyebabkan penurunan kualitas semen. Pembekuan semen cair dilakukan untuk menekan aktivitas spermatozoa hingga tingkat serendah mungkin sehingga viabilitasnya dapat dipertahankan lebih lama. Akan tetapi, paparan suhu yang sangat rendah berisiko menimbulkan kerusakan atau kematian spermatozoa yang dikenal sebagai *cold shock*. Tingkat kematian akibat *cold shock* selama proses pembekuan berkisar antara 20–80%, dengan rata-rata kerusakan sekitar 45–50% (Ismaya, 2014). Oleh karena itu, untuk meminimalkan kerusakan membran spermatozoa, suhu nitrogen cair (-196°C) perlu dipertahankan secara stabil selama masa penyimpanan.

Proses kriopreservasi semen pada suhu sangat rendah (-196°C) dapat memicu terbentuknya kristal es serta perubahan konsentrasi elektrolit di dalam sel. Kondisi tersebut berpotensi menyebabkan kerusakan pada spermatozoa, yang berdampak pada penurunan motilitas, terjadinya fragmentasi DNA, serta berkurangnya kemampuan fertilisasi (Wakayama dan Yanagimachi, 1998; Bailey et al., 2000; Takeda et al., 2015). Oleh karena itu, kualitas spermatozoa harus tetap dipertahankan agar mampu menembus ovum dan

memungkinkan terjadinya proses fertilisasi.

Kerusakan spermatozoa berhubungan erat dengan stres akibat paparan suhu rendah serta fluktuasi suhu selama proses pembekuan (Andryansyah et al., 2020; Rosadi et al., 2015). Pada tahap pendinginan, sel mengalami berbagai pengaruh merugikan, seperti gangguan energi metabolik, perubahan fase membran, ketidakstabilan sitoskeleton, serta peningkatan produksi radikal bebas (ROS). Selama pembekuan, spermatozoa juga menghadapi kondisi hiperosmolaritas, perubahan volume sel, dan denaturasi protein. Sementara itu, pada saat pencairan kembali (thawing), terjadi perubahan permeabilitas membran sel yang dapat berujung pada kematian spermatozoa (Toelihere, 1985).

Secara operasional, semen beku disimpan dalam rendaman nitrogen cair bersuhu -196°C di dalam kontainer kriogenik. Penyimpanan pada nitrogen cair terbukti mampu menjaga kualitas spermatozoa dalam jangka waktu yang panjang (Rosadi et al., 2015). Dalam praktiknya, inseminator mengambil straw berisi semen beku setiap akan melaksanakan IB, kemudian memindahkannya ke wadah nitrogen cair berukuran lebih kecil. Proses pemindahan ini dapat memicu fluktuasi suhu pada kanister penyimpanan kumpulan straw. Selain itu, ketika volume nitrogen cair di dalam kontainer menurun dan kanister diangkat mendekati bagian mulut kontainer, kondisi kanister dapat tidak terendam sempurna bahkan tidak lagi terisi nitrogen cair. Situasi tersebut menyebabkan straw yang mengandung spermatozoa terpapar perubahan suhu yang cukup ekstrem (Andryansyah et al., 2020); (Hoesni et al, 2024); (Hoesni et al, 2025). Berdasarkan kondisi tersebut, diperlukan penelitian untuk mengevaluasi kualitas semen beku sapi Limousin pada permukaan nitrogen cair dengan variasi jarak yang berbeda.

METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium UPTD Balai Pembibitan Ternak, Dinas Tanaman Pangan, Hortikultura, dan Peternakan Provinsi Jambi. Kegiatan penelitian berlangsung selama satu bulan, yaitu mulai dari 27 Oktober hingga 27 November 2023.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 30 straw semen beku sapi limousin dari Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) Singosari, straw tersebut mempunyai batch yang sama yaitu dengan kode lim harless 815111 VV 0519 dan N_2 cair. Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu Mikroskop, Stopwatch, Objek Glass, Cover Glass, Kontainer, Thermometer (-50ºC), Larutan Eosin, Larutan Nacl, Pembakar Bunsen, Penjepit, Tisu, Penggaris, Alat tulis dan Kertas label.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan jarak straw yaitu 5 cm, 10 cm, 15 cm, 20 cm, 25 cm. Pelaksanaan penelitian dimulai dengan pengangkatan canister sesuai dengan jarak masing – masing perlakuan selama 30 detik. Tahapan selanjutnya adalah melakukan thawing dengan menggunakan air hangat bersuhu 37° C selama 30 detik. Selanjutnya dilakukan pengamatan kualitas spermatozoa pasca thawing.

Penilaian motilitas spermatozoa dilakukan dengan meneteskan semen pada kaca objek, kemudian ditutup menggunakan kaca penutup (cover glass). Preparat selanjutnya diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 10 × 40. Estimasi motilitas spermatozoa ditentukan secara keseluruhan berdasarkan pengamatan pada delapan lapang pandang, dan hasilnya dinyatakan dalam bentuk persentase (%) (Toelihere, 1993).

Persentase spermatozoa hidup ditentukan melalui pengamatan menggunakan mikroskop dengan perbesaran objektif 10 × 40 dan metode pewarnaan diferensial memakai larutan eosin 2%. Spermatozoa yang masih hidup ditandai oleh kepala yang tidak menyerap warna (tetap transparan), sedangkan spermatozoa mati menunjukkan kepala berwarna merah. Perhitungan persentase dilakukan dengan mengamati sedikitnya 200 sel spermatozoa. Prosedur pemeriksaan diawali dengan meneteskan satu tetes larutan eosin pada kaca objek yang bersih dan hangat, kemudian ditambahkan satu tetes semen dan dihomogenkan secara merata. Setelah preparat mengering, sampel diamati menggunakan mikroskop (Afriantini, 2012).

Pemeriksaan abnormalitas dilakukan dengan menghitung persentase spermatozoa yang masih memiliki sisa sitoplasma (cytoplasmic droplet) serta spermatozoa yang mengalami kelainan sekunder. Abnormalitas primer meliputi bentuk kepala lonjong, kepala berukuran besar, ekor patah, dan leher bengkok, sedangkan abnormalitas sekunder mencakup kepala terputus, ekor bengkok, dan ekor terputus. Persentase abnormalitas ditentukan melalui pemeriksaan preparat ulas di bawah mikroskop dengan perbesaran 10 × 40, dengan jumlah pengamatan minimal 200 sel spermatozoa. Data yang diperoleh dianalisis dengan sidik ragam (Anova), jika perlakuan berpengaruh nyata terhadap peubah yang diamati. Maka perhitungan data dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan. Analisis dilakukan dengan softwear SPSS 23 for windows.

HASIL

Tabel 1
Rataan Persentase Motilitas, Viabilitas dan Abnormalitas Spermatozoa

Perlakuan	Motilitas (%)	Viabilitas (%)	Abnormalitas (%)
P0	48,99±4,52c	54,65±3,57c	5,83±1,06
P1	48,61±3,20c	53,24±2,12bc	5,37±1,20
P2	46,47±3,11c	52,35±3,55bc	5,54±1,36

Perlakuan	Motilitas (%)	Viabilitas (%)	Abnormalitas (%)
P3	45,26±1,86bc	51,90±0,84bc	5,86±1,56
P4	42,66±0,45b	48,77±2,88ab	5,08±0,73
P5	37,96±1,34a	46,69±6,35a	5,92±1,08

Keterangan : Superskrip dengan huruf kecil yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($P<0.05$).
Sumber: data olahan

Berdasarkan hasil penelitian motilitas spermatozoa sapi limousin menggunakan analisis ragam menunjukkan bahwa jarak straw terhadap permukaan nitrogen cair mempengaruhi motilitas spermatozoa pasca thawing. Hasil dari uji jarak Duncan menunjukkan bahwa penempatan semen beku sapi limousin dengan jarak berbeda dari permukaan nitrogen cair dapat menurunkan motilitas spermatozoa. Penurunan motilitas spermatozoa sudah terlihat berbeda nyata pada P4 (42,66%) dan mengalami penurunan kembali pada P5 (37,96%) yang sangat berbeda nyata dengan P0 (48,99%). Penurunan terjadi disebabkan jauhnya jarak straw pada nitrogen cair yang membuat suhu semakin tinggi. Pada P0 suhu nitrogen cair (-196ºC) dan pada P5 suhu mencapai 20ºC.

Selama proses pembekuan semen mengalami berbagai perubahan suhu. Hasil penelitian ini menunjukkan penurunan kualitas sangat signifikan pada berbagai parameter yang uji. Pada perlakuan P4 dan P5 spermatozoa terpapar suhu lebih tinggi dari suhu nitrogen selama 30 detik, kemudian terpapar kembali dengan suhu pasca thawing yang membuat perubahan suhu dan tekanan osmotik yang menurunkan kualitas spermatozoa. Standar Nasional Indonesia (2000) yang menyatakan bahwa sperma sapi yang telah mengalami pembekuan dan pencairan kembali harus memiliki motil progresif minimal 40%. Fluktuasi suhu meskipun kecil dapat merusak spermatozoa yang sangat rentan terhadap perubahan suhu yang ekstrim. Fluktuasi suhu terjadi akibat berkurangnya nitrogen cair melalui proses evaporasi selama pengangkutan maupun penyimpanan. Kondisi ini umumnya dipengaruhi oleh suhu udara yang tinggi, insulator kontainer yang tidak berfungsi optimal, serta penutup kontainer yang kurang rapat. Situasi tersebut menyebabkan semen beku tidak terhindar dari paparan suhu lingkungan, sehingga spermatozoa di dalam straw mengalami stres termal akibat perubahan suhu yang berulang. Dampak dari kondisi ini adalah penurunan kualitas spermatozoa (Hedah, 1993). Tingkat fluktuasi suhu pada perlakuan P4 terjadi ketika kanister berada tepat di mulut kontainer, sedangkan pada P5 fluktuasi lebih tinggi dibandingkan perlakuan lainnya karena posisi kanister berada 5 cm di atas mulut kontainer. Keadaan tersebut berpotensi menimbulkan kerusakan kriogenik pada spermatozoa.

Viabilitas spermatozoa pada Tabel 1. menunjukkan penurunan yang sangat rendah pada P4 sebesar (48,77%) dan P5 sebesar (46,69%). Persentase viabilitas spermatozoa dapat mengalami penurunan selama proses penyimpanan semen beku. Penurunan persentase viabilitas ini kemungkinan terjadi akibat lama thawing yang dibawah optimal maka spermatozoa mengalami tekanan (*cold shock*). Selain faktor suhu dan lama thawing, spermatozoa yang mati dimungkinkan karena kesalahan saat pembuatan preparat ulas. Saat pembuatan preparate ulas, spermatozoa dapat tertekan sangat keras. Sehingga, membran spermatozoa yang berfungsi melindungi masuknya zat warna ke dalam sel spermatozoa akan rusak. Oleh karena itu, sel spermatozoa yang mati akan menyerap warna, sedangkan sel spermatozoa yang hidup tidak akan menyerap warna (Irvanto et al., 2018).

Persentase viabilitas spermatozoa dapat menurun akibat terjadinya kerusakan pada membran plasma dan membran akrosom yang dipicu oleh cold shock (Pereira, 2010). Tingkat viabilitas spermatozoa sangat bergantung pada keutuhan membrannya (Ihsan, 2008). Apabila membran spermatozoa mengalami kerusakan, proses metabolisme intraseluler akan terganggu sehingga spermatozoa menjadi lemah dan berpotensi mengalami kematian. Susilawati (2011) juga menyatakan bahwa membran merupakan lapisan terluar spermatozoa yang berperan sebagai pelindung utama. Oleh karena itu, kerusakan pada membran akan menyebabkan kematian spermatozoa, dan hanya spermatozoa dengan membran yang masih utuh yang mampu melakukan proses fertilisasi.

Menurut Toelihere (1993), spermatozoa yang masih hidup memiliki membran sel yang utuh sehingga meskipun berada dalam lingkungan yang telah diberi pewarna, bagian kepala tetap tampak transparan karena permeabilitas membrannya masih normal. Sebaliknya, pada spermatozoa yang telah mati, membran mengalami kerusakan sehingga tidak mampu menghambat masuknya zat pewarna. Akibatnya, kepala spermatozoa akan menyerap warna eosin dan tampak merah muda. Susilawati (2013) juga menyatakan bahwa spermatozoa sangat rentan mengalami kerusakan selama proses perlakuan maupun penyimpanan, sehingga berpotensi tidak mampu mempertahankan kualitasnya.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penempatan semen beku di atas permukaan nitrogen cair dengan variasi jarak yang berbeda tidak memberikan pengaruh terhadap tingkat abnormalitas spermatozoa sapi Limousin. Abnormalitas spermatozoa diklasifikasikan menjadi dua kategori, yaitu abnormalitas primer dan abnormalitas sekunder. Abnormalitas primer berkaitan dengan kelainan bentuk pada kepala dan ekor, seperti ukuran kepala yang terlalu kecil atau terlalu besar, kepala

ganda, kepala melebar atau memanjang, serta ekor ganda. Sementara itu, abnormalitas sekunder umumnya terjadi akibat kesalahan dalam penanganan (handling) semen (Susilawati, 2013).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kualitas semen beku sapi limousin diatas permukaan nitrogen cair setinggi 15 cm selama 30 detik tidak menurunkan presentase motilitas dan viabilitas spermatozoa. Sedangkan Fluktuasi suhu akibat jarak straw pada permukaan nitogen cair tidak menyebabkan perubahan pada abnormalitas spermatozoa.

DAFTAR PUSTAKA

Andryansyah, R., Sumarsono, T., Hoesni, F., Rosadi, B., 2020. Kualitas Semen Beku Kambing Peranakan Etawah pada Permukaan Nitrogen Cair dengan Jarak yang Berbeda. *Jurnal Nukleus Perternakan*, 7(1), 1-5.

Bailey, J. L., Bilodeau., J. F., N, Cormier., 2000. Semen Cryopreservation in Domestic Animals: a Damaging and Capacitating Phenomenon. *J Androl*. 21, 1–7

Ball, P.J., Peters., A.R., 2004. *Reproduction in Cattle*.3rd ed. Blackwell Science, Inc.

Hamangkutama, G., J., Ihsan, M. N., Isnaini, N., 2015. Pengaruh Berbagai Metode Thawing Terhadap Kualitas Semen Beku Kambing Peranakan Etawa (PE). *Doctoral dissertation*, Universitas Brawijaya

Hartono, M., 2019. Kualitas Semen Kambing Peranakan Boer. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 10(1), 52-58.

Hedah, Dj., 1993. Peranan Balai Inseminasi Buatan Singosari dalam Meningkatkan Mutu Sapi Madura Melalui Inseminasi Buatan. *Proseding Pertemuan Ilmiah Hasil Penelitian dan Pengembangan Sapi Madura. Sub Balai Penelitian Ternak Grati*. Proyek Pembangunan Peternakan Nasional, Malang.

Hoesni, F., Adisetiawan, R., Farizal, Firmansyah, 2024, Efek Penyimpanan Semen Beku Terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Simental Pada Suhu 5Â° C, *Jurnal Ilmiah Universitas Batanghari Jambi*, 24(1), 31-34

Hoesni, F., Adisetiawan, R., Farizal, 2025, Kualitas Semen Beku Sapi Bali pada Penyimpanan Suhu Kamar, *Jurnal Ilmiah Universitas Batanghari Jambi*, 25(1), 15-19

Ihsan, M. N. 2008. Upaya Peningkatan Konsentrasi Spermatozoa Hasil Pemisahan dengan Sentrifugasi Gradien Densitas Percoll pada Sapi Friesian Holstein (FH). *Disertasi.* Program Pascasarjana Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Malang.

Ismaya, 2014. *Bioteknologi Inseminasi Buatan pada Sapi dan Kerbau*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.

Rosadi, B., Sumarsono, T., Darmawan. 2015. Motilitas Spermatozoa Kerbau Lumpur pada Penyimpanan Semen Beku dalam Es. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 18(2), 98-101.

Sholihati, N., Idi, R., Rasad, S. D., Rizal, M., Fitriati, M., 2008. Kualitas spermatozoa cauda epididimis sapi peranakan ongole (PO) dalam pengencer susu, tris dan sitrat kuning telur pada penyimpanan 4-50C. *Animal Production*, 10(1), 22–29.

Steel, R. G. D., J. H. Torrie., 1993. *Prinsip dan Prosedur Statistika. Suatu Pendekatan Biometrik*. PT Gramedia Pustaka Utama.

Sugeng, B., 1998. *Sapi Potong*. Penebar Swadaya. Jakarta.

Susilawati, 2013, *Teknik Inseminasi Buatan*. UB Press

Susilawati, 2005. Motilitas dan Proses Pembentukan Semen Segar menjadi Semen Beku. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya.Malang.

Takeda, K., Uchiyama, K., Kinukawa, M., Tagami, T., Kaneda, M., Watanabe, S. 2015. Evaluation of Sperm DNA Damage in Bulls By TUNEL Assay as a Parameter of Semen Quality. *J Reprod Dev*, 61(3), 185–190.

Toelihere, M. R. 1985. *Fisiologi Reproduksi Pada Ternak*. Cetakan ke dua. Angkasa. Bandung.

Toelihere, M. R. 1993. *Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Cetakan ke tiga. Angkasa.

Wakayama, T., Yanagimachi R. 1998. Development of Normal Mice from Oocytes Injected with Freeze-Dried Spermatozoa. *Nat Biotechnol*, 16(7), 639–646.

Widiastuti, E. 2001. Kualitas Semen Beku Sapi FH dengan Penambahan Antioksidan Vitamin C dan E. *Skrips*i Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor.

White, I. G., 1969. *Mammalia Semen*. In: E.S.E. Hafez (Ed.) Reproduction in farm animals. Lea and Febiger, Philadelpia.