

# **ANALISIS KUALITAS SEMEN BEKU SAPI SIMMENTAL MENGUNAKAN PENGECER ANDROMED® DENGAN VARIASI WAKTU PRE FREEZING**

## **Analysis Quality of Simmental Semen Using Andromed® Extender with Variations of Pre Freezing Time**

**Rizki Indah Pratiwi<sup>a</sup>, Sri Suharyati<sup>b</sup>, Madi Hartono<sup>b</sup>**

<sup>a</sup>The Student of Department of Animal Husbandry Faculty of Agriculture Lampung University

<sup>b</sup> The Lecture of Department of Animal Husbandry Faculty of Agriculture Lampung University

Department of Animal Husbandry, Faculty of Agriculture Lampung University

Soemantri Brojonegoro No.1 Gedung Meneng Bandar Lampung 35145

Telp (0721) 701583. e-mail: [kajur-jptfp@unila.ac.id](mailto:kajur-jptfp@unila.ac.id). Fax (0721)770347

### **ABSTRACT**

The goals of research was to know the effect of pre freezing time to the frozen semen quality of Simmental and the best time of pre freezing that can preserve the frozen semen quality of Simmental. This study was conducted in Regional Technical Service Unit - Regional Artificial Insemination Office Lampung, Terbanggi Besar District, Central Lampung Regency, Lampung Province on 7<sup>th</sup> – 13<sup>th</sup> April 2014. The completely randomized design was used in this research with 5 treatments (5 minutes; 6 minutes; 7 minutes; 8 minutes; 9 minutes) and 4 times of replication. The data were analyzed using analysis of variance and then continued with orthogonal polynomial test.

The results showed that the time of pre freezing did not affect significantly ( $P > 0.05$ ) on the percentage of sperm motility and the percentage of life sperm after pre freezing, but the effect was significant ( $P < 0.01$ ) on the percentage of sperm motility and percentage of life sperm post thawing. Orthogonal polynomial test showed that the effect of pre- freezing time on the percentage of sperm motility and percentage of life sperm after thawing had linear pattern with each equation those were  $Y = -28,88 + 7,38X$  and  $Y = -24,97 + 8,09X$ . Pre freezing for 9 minutes was able to show the percentage of sperm motility and percentage of life sperm after thawing better than the pre freezing for 5 – 8 minutes.

Keywords: quality of semen, Simmental Bull, pre freezing time

### **PENDAHULUAN**

Sapi Simmental merupakan salah satu bangsa sapi potong yang mempunyai pertumbuhan cepat. Sapi jenis ini merupakan sapi dwiguna, yaitu sapi yang menghasilkan susu dan daging. Secara morfologi, Sapi Simmental memiliki ciri fisik tidak berpuncuk dan tidak bergelambir. Warna bulunya cokelat kemerahan (merah bata). Bagian wajah dan lutut ke bawah sampai ujung ekor berwarna putih. Betina dewasa dapat mencapai 800 kg, sedangkan pejantan dewasa mencapai berat sekitar 1150 kg. Berdasarkan keunggulan tersebut, banyak peternak di Indonesia yang memelihara Sapi Simmental untuk memenuhi tingginya kebutuhan daging sapi untuk masyarakat. Bibit Sapi Simmental yang unggul dapat diperoleh dengan melakukan program pemuliaan ternak melalui Inseminasi Buatan (IB).

IB adalah suatu proses mengawinkan ternak dengan cara buatan yang melibatkan prosedur kompleks dan petugas pelaksana yang terlatih. Salah satu faktor yang dapat menentukan keberhasilan program IB yaitu mutu semen beku sapi. Oleh sebab itu, mutu semen beku harus selalu terjaga agar fertilitasnya tetap baik. Semen beku yang berkualitas baik mempunyai persentase motilitas dan spermatozoa hidup yang tinggi. Namun, terdapat banyak faktor yang dapat menurunkan kualitas semen mulai dari proses pengolahan, penyimpanan dalam kontainer, dan distribusi semen beku itu sendiri. Masalah yang sering menyebabkan penurunan kualitas semen adalah pada proses pengolahan terutama pada tahap pembekuan. Pembekuan merupakan proses pengeringan fisik yang meliputi dua tahap, yaitu pre freezing dan freezing. Pada proses pembekuan semen akan mengakibatkan terjadinya cold shock dan

perubahan intraseluler yang berkaitan dengan pembentukan kristal-kristal es. Menurut Parrish (2003), semen akan mengalami penurunan kualitas sekitar 10 – 40% pada saat pembekuan.

Derajat pendinginan merupakan problem penting dalam proses pembekuan semen. Derajat kecepatan pendinginan untuk mempertahankan fertilitas spermatozoa belum diketahui dengan pasti. Berdasarkan Peraturan Direktur Jenderal Peternakan Nomor: 12207/Hk.060/F/12/2007, proses pembekuan pada tahap pre freezing dilakukan selama 5 – 9 menit di atas N<sub>2</sub> cair. Menurut Nilna (2010), pembekuan berlangsung selama 9 menit.

## MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada April 2014 di Balai Inseminasi Buatan Daerah (BIBD) Lampung, Kecamatan Terbanggi Besar, Kabupaten Lampung Tengah, Provinsi Lampung. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 waktu pre freezing, yaitu 5 menit; 6 menit; 7 menit; 8 menit; dan 9 menit, dengan 4 kali ulangan. Data yang diperoleh dianalisis ragam pada taraf 5% dan atau 1% serta dilanjutkan dengan uji polinomial ortogonal pada taraf 1% untuk perlakuan yang berbeda nyata terhadap peubah yang diukur.

Pelaksanaan penelitian dimulai dengan menampung semen dari pejantan Sapi Simmental menggunakan vagina buatan (artificial vagina), selanjutnya dilakukan evaluasi semen segar secara makroskopis (volume, konsistensi, warna, bau) dan mikroskopis (gerakan massa, gerakan individu, konsentrasi). Semen segar yang memenuhi syarat kemudian diencerkan dengan pengencer Andromed<sup>®</sup> secara merata. Selanjutnya dilakukan ekuilibrasi terhadap semen yang telah diencerkan. Pemeriksaan post ekuilibrasi dilakukan setelah ekuilibrasi selesai. Semen yang memenuhi standar akan dilanjutkan proses filling, sealing, dan printing. Langkah selanjutnya yaitu melaksanakan sampling terhadap straw berisi semen sapi Simmental yang akan dibekukan. Sampel dibagi sesuai perlakuan waktu pre freezing yang direncanakan.

Proses pre freezing dilakukan dengan cara meletakkan straw yang berisi semen cair di atas rak hitung kemudian ditempatkan pada 4 cm di atas permukaan N<sub>2</sub> cair dalam box freezing (panjang 43 cm dan lebar 27 cm). Volume N<sub>2</sub> cair yang digunakan yaitu 7,5 liter.

Proses pre freezing ini dilakukan sesuai perlakuan waktu yang diberikan yaitu 5 menit, 6 menit, 7 menit, 8 menit, dan 9 menit. Pemeriksaan setelah pre freezing dilakukan setelah proses pre freezing selesai.

Tahapan terakhir pada proses pembuatan semen beku yaitu pembekuan. Pembekuan dilakukan dengan cara mencelupkan straw berisi semen cair ke dalam N<sub>2</sub> cair sampai terendam. Setelah pembekuan selesai, dilanjutkan dengan pemeriksaan post thawing motility. Pengumpulan data dilakukan pada setiap pemeriksaan kualitas.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kualitas Semen Segar

Semen segar yang digunakan dalam penelitian berasal dari hasil penampungan Sapi Simmental yang berumur 7 tahun. Hasil pemeriksaan secara makroskopis dan mikroskopis dari semen segar sapi Simmental disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil evaluasi kualitas semen segar

Parameter	Nilai
Makroskopis	
Volume (ml)	7
Warna	Krem
Bau	Khas
Konsistensi	Kental
Mikroskopis	
Konsentrasi (10 <sup>6</sup> /ml)	1850
Gerakan Massa	+++
Motilitas (%)	75
Spermatozoa hidup (%)	89,77

+++ : sangat baik, terlihat gelombang-gelombang besar, banyak, gelap, tebal, dan aktif bagaikan awan hitam yang bergerak cepat berpindah-pindah tempat

Hasil penelitian (Tabel 1) menunjukkan bahwa volume semen Sapi Simmental adalah 7 ml dapat dikatakan normal karena sesuai dengan Toelihere (1993) yang menyatakan bahwa volume semen sapi jantan berkisar 1 – 15 ml. Menurut Salisbury dan VanDenmark (1985), sapi jantan yang telah dewasa dapat menghasilkan semen lebih banyak yaitu 10 – 15 ml tiap ejakulasi.

Warna semen sapi adalah krem dengan konsistensi kental. Hasil ini sesuai dengan pendapat Toelihere (1993) yang menyatakan bahwa secara normal semen sapi berwarna seperti susu atau krem keputih-putihan dan keruh. Derajat kekeruhannya tergantung pada konsentrasi spermatozoa.

Bau semen sapi yaitu khas semen yang menunjukkan bahwa semen tersebut normal dan tidak terdapat kontaminasi sehingga dapat dilakukan prosesing semen, hal ini sesuai dengan pendapat Rizal dan Herdis (2008) yang mengatakan bahwa pada umumnya bau semen dikategorikan sebagai bau khas. Semen sapi pada penelitian ini memiliki konsistensi kental dengan konsentrasi  $1850 \times 10^6$  sel per ml. Toelihere (1993) menyatakan bahwa semen sapi dengan konsistensi krem mempunyai konsentrasi  $1000 \times 10^6 - 2000 \times 10^6$  atau lebih sel per ml.

Menurut Toelihere (1985), gerakan massa spermatozoa yang normal berkisar antara (++) dan (+++). Motilitas massa pada penelitian ini tergolong sangat baik (+++) yang memperlihatkan adanya gelombang-gelombang besar, gelap, dan aktif bagaikan gumpalan awan hitam yang bergerak cepat berpindah-pindah tempat. Motilitas individu spermatozoa yang diamati setelah penampungan adalah 75% ditandai dengan adanya pergerakan progresif spermatozoa. Hasil ini sesuai dengan Toelihere (1993) yang menyatakan bahwa kebanyakan pejantan yang fertil mempunyai 50 – 80% spermatozoa yang motil aktif progresif.

Persentase spermatozoa hidup atau viabilitas yang diperoleh pada penelitian ini adalah 89,77%. Nilai viabilitas ini dapat dikatakan baik karena sesuai dengan pendapat Hafez (2000) yang mengatakan bahwa persentase hidup semen sapi segar sebesar 60 – 80%.

#### **Penilaian Kualitas Semen setelah Ekuilibrase**

Pemeriksaan motilitas sperma merupakan satu-satunya cara penentuan kualitas semen sesudah pengenceran (Toelihere, 1993). Dalam penelitian ini, penilaian kualitas semen setelah ekuilibrase meliputi: persentase motilitas spermatozoa dan persentase spermatozoa hidup. Data hasil pengamatan terhadap motilitas dan persentase spermatozoa hidup setelah ekuilibrase disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Kualitas semen Sapi Simmental setelah ekuilibrase

Parameter Kualitas	Nilai
Motilitas (%)	50
Spermatozoa hidup (%)	87,11

Persentase motilitas spermatozoa setelah ekuilibrase lebih rendah dibandingkan dengan persentase motilitas spermatozoa pada semen segar. Penurunan motilitas spermatozoa

setelah ekuilibrase terjadi akibat cold shock dan pembentukan kristal-kristal es yang menyebabkan kerusakan membran spermatozoa. Hal ini sesuai dengan Situmorang (2002) yang menyatakan bahwa penurunan motilitas spermatozoa setelah pendinginan diduga karena turunnya kandungan phospholipid yang merupakan komponen membran sel spermatozoa. Phospholipid berfungsi untuk melindungi sel spermatozoa dari cold shock.

Menurut Sugiarti et al. (2004), proses pendinginan pada suhu 5°C akan menyebabkan penurunan motilitas spermatozoa akibat adanya asam laktat sisa metabolisme sel yang menyebabkan kondisi medium menjadi semakin asam karena penurunan pH. Kondisi ini dapat bersifat racun bagi spermatozoa yang akhirnya menyebabkan kematian spermatozoa.

Persentase spermatozoa hidup pada semen yang telah diencerkan menggunakan media pengencer Andromed® dan didinginkan pada suhu 5°C adalah 87,11% (Tabel 2). Persentase spermatozoa hidup pada penelitian ini dapat dikatakan baik karena sesuai dengan pendapat Toelihere (1993) yang mengatakan bahwa semen yang baik memiliki persentase viabilitas lebih dari 50%. Tingginya persentase spermatozoa hidup pada penelitian ini disebabkan karena masih tersedianya sumber energi yang dibutuhkan spermatozoa dan tekanan osmotik yang masih isotonis sehingga dapat menjaga ketahanan hidup spermatozoa.

Persentase spermatozoa hidup yang tinggi disebabkan oleh peran serta media pengencer yang digunakan. Menurut Minitub (2001), bahan pengencer Andromed® memiliki komposisi kimia yang tersusun dari beberapa bahan yang dibutuhkan oleh spermatozoa selama proses pembekuan, diantaranya natrium dan kalium. Kedua bahan tersebut berperan dalam menjaga integritas fungsional membran plasma spermatozoa. Kalium juga berperan dalam menginduksi motilitas dan hiperaktivasi spermatozoa, serta dapat memengaruhi daya tahan hidup spermatozoa.

#### **Pengaruh Variasi Waktu Pre Freezing Terhadap Persentase Motilitas Spermatozoa setelah Pre Freezing**

Pengaruh variasi waktu pre freezing terhadap persentase motilitas spermatozoa setelah pre freezing dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rataan persentase motilitas spermatozoa semen beku Sapi Simmental setelah pre freezing

Ulangan	Waktu Pre Freezing (Menit)				
	5	6	7	8	9
	-----%-----				
1	50	45	50	50	50
2	50	50	50	50	50
3	40	50	45	50	50
4	50	50	50	50	50
Rataan	47,5	48,75	48,75	50	50

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa variasi waktu pre freezing tidak berpengaruh nyata ( $P>0,05$ ) terhadap persentase motilitas spermatozoa setelah pre freezing. Persentase motilitas spermatozoa setelah pre freezing berkisar antara 40 – 50%. Perbedaan waktu pre freezing selama 5 – 9 menit tidak menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap persentase motilitas spermatozoa, hal tersebut disebabkan karena pada proses pre freezing ini spermatozoa sedang beradaptasi dengan penurunan suhu sebelum nantinya dibekukan dalam  $N_2$  cair dengan suhu  $-196^\circ\text{C}$ . Pendinginan dari  $5^\circ\text{C}$  ke  $-15^\circ\text{C}$  dalam waktu 5 – 9 menit dengan kecepatan 1 sampai 3 derajat per menit menyebabkan kualitas spermatozoa menurun karena spermatozoa sapi banyak mengalami penurunan pada suhu kritis antara  $-1,5^\circ\text{C}$  dan  $-30^\circ\text{C}$ , rata-rata pada suhu  $-17^\circ\text{C}$ .

Pada proses pre freezing, kerusakan akibat cold shock dan pembentukan kristal-kristal es belum terlalu tinggi dibandingkan setelah freezing. Selain itu, penggunaan bahan pengencer Andromed<sup>®</sup> juga dapat memberikan pengaruh terbaik terhadap persentase motilitas spermatozoa. Kandungan gliserol dalam pengencer Andromed<sup>®</sup> dapat meningkatkan daya tahan spermatozoa. Gliserol membantu spermatozoa bertahan terhadap penurunan suhu sehingga akan mengurangi kerusakan sperma akibat cold shock.

#### Pengaruh Variasi Waktu Pre Freezing Terhadap Motilitas Spermatozoa setelah Thawing

Pengaruh variasi waktu pre freezing terhadap motilitas spermatozoa setelah thawing dapat dilihat pada Tabel 4.

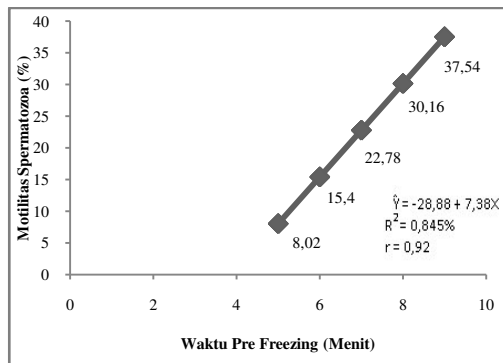
Tabel 4. Rataan persentase motilitas spermatozoa semen beku Sapi Simmental setelah thawing

Ulangan	Waktu Pre Freezing (Menit)				
	5	6	7	8	9
	-----%-----				
1	10	10	10	30	40
2	10	20	20	30	40
3	10	25	20	30	40
4	10	10	20	30	40
Rataan	10	16,25	17,5	30	40

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa variasi waktu pre freezing berpengaruh sangat nyata ( $P<0,01$ ) terhadap persentase motilitas spermatozoa setelah thawing. Hasil uji polinomial ortogonal juga menunjukkan bahwa variasi waktu pre freezing berpengaruh sangat nyata ( $P<0,01$ ) terhadap persentase motilitas spermatozoa setelah thawing.

Rata-rata persentase motilitas spermatozoa tertinggi yaitu 40% diperoleh dari perlakuan waktu pre freezing selama 9 menit. Hasil tersebut lebih rendah apabila dibandingkan penelitian Samsudewa dan Suryawijaya (2008) yaitu 45% pada motilitas spermatozoa Sapi Simmental. Begitupun laporan penelitian Umar dan Maharani (2005) yang melaporkan bahwa pre freezing selama 9 menit pada Sapi Limousin memberikan angka persentase motilitas spermatozoa sebesar 47,25%, serta laporan penelitian Srianto et al. (2013) yaitu 47,5% pada persentase motilitas spermatozoa Sapi Friesian Holstein.

Uji polinomial ortogonal menunjukkan bahwa pengaruh variasi waktu pre freezing terhadap persentase motilitas spermatozoa berpola linier dengan persamaan  $\hat{Y} = -28,88 + 7,38X$ , yang berarti setiap penambahan waktu selama 1 menit pada saat pre freezing memberikan kenaikan sebesar 0,738% spermatozoa motil. Koefisien determinasi 84,53% yang berarti bahwa perlakuan memberikan pengaruh 84,53% terhadap persentase motilitas spermatozoa dan sisanya 15,47% dipengaruhi oleh faktor lain di luar perlakuan. Koefisien korelasi adalah 0,92 menunjukkan hubungan yang erat antara perlakuan dengan persentase motilitas spermatozoa. Hubungan antara variasi waktu pre freezing terhadap persentase motilitas spermatozoa setelah thawing dijelaskan secara grafik pada Gambar 1.



Gambar 1. Hubungan antara variasi waktu pre freezing dengan persentase motilitas spermatozoa setelah thawing

Dari hubungan antara variasi waktu pre freezing terhadap persentase motilitas spermatozoa setelah thawing (Gambar 1) diketahui bahwa motilitas spermatozoa terlihat semakin meningkat dengan adanya peningkatan waktu pre freezing. Pada waktu pre freezing yang singkat terlihat bahwa persentase motilitas spermatozoa lebih rendah bila dibandingkan dengan persentase motilitas spermatozoa pada waktu pre freezing yang lebih panjang.

Pre freezing selama 5 – 8 menit tidak memberikan nilai persentase motilitas spermatozoa yang lebih baik dibandingkan dengan 9 menit, hal ini disebabkan karena spermatozoa banyak mengalami kematian akibat penurunan suhu yang terlalu cepat. Kurangnya waktu adaptasi spermatozoa terhadap suhu dingin sebelum dimasukkan ke dalam  $N_2$  cair ( $-196^\circ C$ ) menyebabkan spermatozoa banyak mengalami kerusakan akibat cold shock dan perubahan-perubahan intraseluler yang berkaitan dengan pembentukan kristal-kristal es. Sementara itu, perlakuan waktu pre freezing selama 9 menit memberikan kesempatan yang lebih lama bagi spermatozoa untuk melakukan adaptasi terhadap penurunan suhu pada proses pre freezing sehingga dapat meminimalkan kerusakan-kerusakan tersebut.

Menurut Toelhiere (1993), kristal-kristal es yang terbentuk saat proses pembekuan semen dapat merusak spermatozoa. Konsentrasi elektrolit yang berlebihan akan melarutkan selubung lipoprotein pada dinding sel spermatozoa sehingga permeabilitas membran sel akan berubah dan menyebabkan kematian sel.

Kerusakan membran plasma spermatozoa pada saat proses pembekuan semen juga terjadi akibat terbentuknya peroksidasi lipid. Membran plasma

spermatozoa banyak mengandung asam lemak tidak jenuh yang sangat rentan terhadap kerusakan peroksidasi tersebut (Maxwell dan Watson, 1996). Rusaknya membran plasma dapat menyebabkan terganggunya keseimbangan tekanan osmotik di dalam maupun di luar sel.

Masalah pembekuan ini sebagian dapat diatasi dengan menggunakan zat-zat pelindung yang tersedia di dalam media pengencer Andromed<sup>®</sup> dan penurunan suhu secara gradual. Kandungan gliserol dalam media pengencer Andromed<sup>®</sup> dapat membantu spermatozoa bertahan terhadap penurunan suhu sehingga akan mengurangi kerusakan spermatozoa akibat cold shock. Menurut Toelhiere (1993), kerusakan sebanyak 20% dari seluruh spermatozoa pada waktu pembekuan masih dianggap memuaskan.

Berdasarkan hasil penelitian (Tabel 4), proses pre freezing selama 9 menit memberikan pengaruh yang baik terhadap kualitas semen beku Sapi Simmental yang menggunakan pengencer Andromed<sup>®</sup> sehingga semen bekuyang dihasilkan memenuhi syarat untuk dipergunakan dalam inseminasi buatan yaitu mempunyai persentase motilitas post thawing sebesar 40%. Menurut Garner dan Hafez (2000), syarat minimal motilitas individu sperma post thawing agar dapat dipergunakan dalam inseminasi buatan adalah 40%.

### Pengaruh Variasi Waktu Pre Freezing Terhadap Persentase Spermatozoa Hidup setelah Pre Freezing

Pemeriksaan persentase spermatozoa hidup dilakukan menggunakan preparat ulas dengan pewarna eosin 2% dengan batasan bahwa sperma hidup tidak dapat menyerap warna merah eosin sedangkan spermatozoa mati menyerap warna karena permeabilitas dindingnya meningkat sehingga senyawa kimia dengan mudah akan masuk ke dalam sel. Data persentase spermatozoa hidup setelah pre freezing dapat dilihat pada Tabel 5.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa variasi waktu pre freezing tidak berpengaruh nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap persentase spermatozoa hidup setelah pre freezing. Persentase spermatozoa hidup setelah pre freezing masih baik meskipun mengalami penurunan. Penurunan persentase spermatozoa hidup setelah pre freezing disebabkan oleh terjadinya cold shock dan kerusakan membran spermatozoa akibat dari pembentukan kristal-kristal es yang

menimbulkan perbedaan tekanan osmotik di luar dan di dalam sel sehingga akan meningkatkan angka kematian. Samsudewa (2006) menyatakan bahwa peningkatan tekanan osmotik pada plasma semen dapat menurunkan permeabilitas membran spermatozoa dan meningkatkan kerusakan membran. Kerusakan membran yang terjadi dapat menyebabkan kematian spermatozoa.

Tabel. 5 Rataan persentase spermatozoa hidup setelah pre freezing

Ulangan	Waktu Pre Freezing (Menit)				
	5	6	7	8	9
	-----%-----				
1	61,86	60,44	48,48	59,23	56,00
2	63,73	58,75	58,49	56,59	60,00
3	43,52	48,65	57,14	56,52	59,32
4	55,56	55,46	58,96	57,28	57,35
Rataan	56,17	55,83	55,77	57,41	58,17

#### Pengaruh Variasi Waktu Pre Freezing Terhadap Persentase Spermatozoa Hidup setelah Thawing

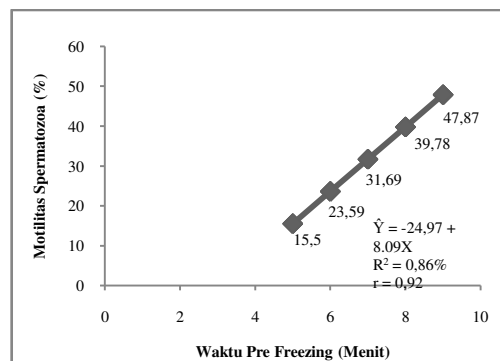
Pengaruh perlakuan terhadap persentase spermatozoa hidup setelah thawing dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Rataan persentase spermatozoa hidup setelah thawing

Ulangan	Waktu Pre Freezing (Menit)				
	5	6	7	8	9
	-----%-----				
1	16,85	19,28	17,58	36,59	48,25
2	17,76	33,68	27,96	39,24	50,52
3	16,67	28,21	29,76	40,22	52,22
4	17,31	20,48	28,57	40,63	51,96
Rataan	17,15	25,41	25,97	39,17	50,74

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa variasi waktu pre freezing berpengaruh sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap persentase spermatozoa hidup setelah thawing. Hasil uji polinomial ortogonal juga menunjukkan bahwa variasi waktu pre freezing berpengaruh sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap persentase spermatozoa hidup setelah thawing. Persentase spermatozoa hidup setelah thawing berkisar antara 16,67 – 52,22%. Rata-rata

persentase spermatozoa hidup tertinggi yaitu 50,74% diperoleh pada perlakuan waktu pre-freezing selama 9 menit dan terendah 17,15% diperoleh pada perlakuan waktu pre freezing selama 5 menit. Hubungan antara variasi waktu pre freezing terhadap persentase spermatozoa hidup setelah thawing dijelaskan secara grafik pada Gambar 2.



Gambar 2. Hubungan antara variasi waktu pre freezing dengan persentase spermatozoa hidup setelah thawing

Persamaan polinomial pada grafik persentase sperma hidup (Gambar 2) memperlihatkan bahwa peningkatan waktu pre freezing sampai 9 menit akan meningkatkan persentase spermatozoa hidup. Hasil uji polinomial ortogonal menunjukkan bahwa pengaruh perlakuan terhadap persentase spermatozoa hidup berpola linier dengan persamaan  $\hat{Y} = -24,97 + 8,09X$ , yang berarti setiap penambahan waktu selama 1 menit pada saat pre freezing memberikan kenaikan sebesar 0,809% spermatozoa hidup. Koefisien determinasi 86% yang berarti bahwa perlakuan memberikan pengaruh 86% terhadap persentase spermatozoa hidup dan sisanya 14% dipengaruhi oleh faktor lain di luar perlakuan. Koefisien korelasi adalah 0,92 menunjukkan hubungan yang erat antara perlakuan dengan persentase spermatozoa hidup.

Berdasarkan data hasil penelitian diketahui persentase spermatozoa hidup lebih tinggi dibandingkan persentase motilitas pada semua perlakuan, hal ini adalah normal karena spermatozoa yang tidak bergerak belum tentu mati. Spermatozoa yang hanya bergerak perlahan-lahan, tetapi masih hidup tidak akan menyerap warna eosin. Partodiharjo (1992) mengemukakan bahwa spermatozoa yang tidak bergerak belum tentu mati sehingga tidak menghisap warna, sedangkan pada penafsiran dengan dasar bergerak dan tidak bergerak dianggap immotil. Spermatozoa yang hidup dan tidak bergerak, diiringi defect

(cacat) pada dinding selnya dapat menghisap warna sehingga di bawah mikroskop dianggap mati sedangkan penafsiran yang lain dianggap hidup. Bearden dan Fuquay (2000) menyatakan bahwa persentase spermatozoa hidup akan selalu lebih tinggi daripada motilitas spermatozoa.

Waktu pre freezing yang lebih pendek menunjukkan nilai persentase spermatozoa hidup yang lebih rendah dibandingkan dengan waktu pre freezing yang lebih panjang, hal ini disebabkan karena spermatozoa banyak mengalami kematian akibat terjadinya cold shock pada tekanan penurunan suhu yang cepat tanpa adanya waktu tepat untuk penyesuaian diri. Pendinginan cepat dari 5°C ke -15°C dalam waktu 5 – 8 menit tidak dapat mempertahankan angka persentase spermatozoa hidup. Kristal-kristal es yang terbentuk saat proses pembekuan semen juga dapat merusak spermatozoa. Konsentrasi elektrolit yang berlebihan akan melarutkan selubung lipoprotein pada dinding sel spermatozoa sehingga permeabilitas membran sel akan berubah dan menyebabkan kematian sel.

Menurut Yudhaningsih (2004), suhu yang rendah akan mengakibatkan bocornya substansi vital dalam spermatozoa sehingga enzim intraseluler, lipoprotein, ATP, kalium intraseluler dan lemak berfosfor berkurang dan menyebabkan kerusakan membran plasma. Pangestu (2002) menyatakan bahwa 50% sperma mamalia akan mati setelah pembekuan dan thawing.

## SIMPULAN

Variasi waktu pre freezing tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap persentase motilitas spermatozoa dan persentase spermatozoa hidup setelah pre freezing, tetapi memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap persentase motilitas spermatozoa dan persentase spermatozoa hidup post thawing. Waktu pre freezing terbaik yang dapat mempertahankan motilitas individu spermatozoa dan persentase spermatozoa hidup semen beku Sapi Simmental yang menggunakan pengencer Andromed® terdapat pada perlakuan pre freezing selama 9 menit.

## DAFTAR PUSTAKA

Bearden, H. J., and J. W. Fuquay. 2000. *Applied Animal Reproduction* 5<sup>th</sup> Ed.

- Prentice Hall. Upper Saddle River. New Jersey
- Garner, D. L. and E. S. E. Hafez. 2000. *Spermatozoa and Seminal Plasma in Reproduction in Farm Animals* Edited by E. S. E. Hafez. 7<sup>th</sup> Ed. Lippincott Williams and Wilkins. Philadelphia
- Hafez, E. S. E. 2000. *Semen Evaluation in Reproduction In Farm Animals* 7<sup>th</sup> Ed. Lippincott Williams and Wilkins. Philadelphia
- Maxwell, W. M. C. and P. F. Watson. 1996. Recent progress in the preservation of ram semen. *J. Anim. Reprod. Sci.* 42: 55 – 65
- Minitub. 2001. *Certificate Andromed*. Minitub Abfullund Labortechnik GmbH and Co KG. Germany
- Nilna. 2010. *Standar Operasional Pekerjaan Prosesing Semen*. Pengawas Mutu Bibit Ternak pada Dinas peternakan. Sumatera Barat
- Pangestu, M. 2002. *Preservation of spermatozoa: methods and applications*. Indonesian Forum on Reproduction. *Journal on Reproduction*. 1(2): 55 – 56
- Parrish, J. 2003. *Techniques in domestic animal reproduction-evaluation and freezing of semen*. [http://www.wisc.edu/ansci\\_repro/](http://www.wisc.edu/ansci_repro/). Diakses 14 September 2013
- Partodiharjo, S. 1992. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Mutiara. Jakarta
- Rizal, M. dan Herdis. 2008. *Inseminasi Buatan pada Domba*. Rineka Cipta. Jakarta
- Salisbury, G. W. dan N. L. VanDenmark. 1985. *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi*. Penerjemah R. Januar. Gajah Mada University Press. Yogyakarta
- Samsudewa, D. 2006. *Pengaruh Jumlah Spermatozoa Per Inseminasi Terhadap Kualitas Semen Beku dan Penampilan Kesuburan Pada Kambing Peranakan Etawa*. Tesis. Universitas Diponegoro. Semarang
- Samsudewa, D. dan A. Suryawijaya. 2008. *Pengaruh Berbagai Metode Thawing Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi*. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. 1: 88 – 92
- Situmorang, P. 2002. *Pengaruh penambahan eksogenous phospholipid ke dalam pengencer tris dengan tingkat kuning telur yang berbeda pada daya hidup spermatozoa sapi*.

- <http://peternakan.litbang.deptan.go.id/fullteks/jitv/jitv73-7.pdf>. Diakses 14 September 2013. JITV 7(3): 181 – 187
- Srianto, P., S. Fatimah, R. B. Utomo dan I. N. Triana. 2013. Motilitas dan persentase hidup spermatozoa sapi friesian holstein post thawing dalam pengencer skim kuning telur, tris kuning telur dan andromed®. <http://journal.unair.ac.id/filerPDFVETMED%20EDISI%20%2016%202013-10.pdf>. Diakses 14 September 2013. 6(1): 51 – 54
- Sugiarti, T., E. Triwulanningsih, P. Situmorang, R. G. Sianturi dan D. A. Kusumaningrum. 2004. Penggunaan Katalase dalam Produksi Semen Dingin Sapi. Puslitbang Peternakan. Bogor
- Toelihere, M. R. 1985. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Angkasa. Bandung
- Toelihere, M. R. 1993. Inseminasi Buatan pada Ternak. Angkasa. Bandung
- Umar, S. dan M. Maharani. 2005. Pengaruh berbagai waktu ekuilibisasi terhadap daya tahan sperma sapi limousin dan uji kebuntingan. Jurnal Agribisnis Peternakan. <http://repository.usu.ac.id/bitstream123456789208971agp-apr2005-4.pdf>. Diakses 14 September 2013. 1(1): 17 – 21
- Yudhaningsih, H. 2004. Kualitas dan Integritas Membran Spermatozoa Sapi Madura Menggunakan Motilitas dan Pengencer yang Berbeda Selama Proses Pembekuan Semen. Skripsi. Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya. Malang