

**PENGARUH WAKTU *THAWING* TERHADAP KUALITAS
SEMEN PADA BERBAGAI JENIS BANGSA SAPI**

SKRIPSI

**MASKUN MUSLIMIN
I11114552**



**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

**PENGARUH WAKTU *THAWING* TERHADAP KUALITAS
SEMEN PADA BERBAGAI JENIS BANGSA SAPI**

SKRIPSI

**MASKUN MUSLIMIN
I11114552**

**Skripsi sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Peternakan
pada Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin**

**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

PENGARUH WAKTU *THAWING* TERHADAP KUALITAS SEMEN PADA BERBAGAI JENIS BANGSA SAPI

Disusun dan diajukan oleh

MASKUN MUSLIMIN
I11114552

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Peternakan Fakultas
Peternakan Universitas Hasanuddin
Pada tanggal 1 Oktober 2021
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Pembimbing Utama

Pembimbing Anggota

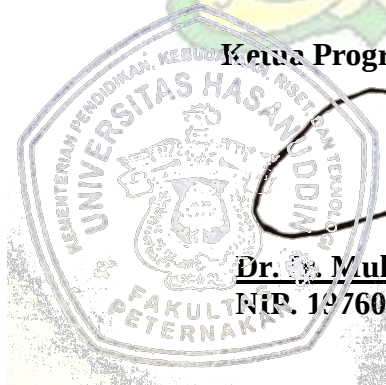


Prof. Ir. Muhammad Yusuf, S.Pt., Ph.D., IPU
NIP. 19700725 199903 1 001



Dr. Muhammad Ihsan. A. Dagong, S.Pt., M.Si
NIP. 19770526 200212 1 003

Ketua Program Studi,



Dr. Muh. Ridwan, S.Pt., M.Si., IPU.
NIP. 19760616 200003 1 001

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : MASKUN MUSLIMIN
Nim : I111 14 552
Program Studi : Peternakan
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul

Pengaruh Waktu *Thawing* Terhadap Kualitas Semen pada Berbagai Jenis Bangsa Sapi

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, Oktober 2021

Yang Menyatakan



MASKUN MUSLIMIN

ABSTRAK

Maskun Muslimin, NIM: I11114552. Pengaruh Waktu *Thawing* Terhadap Kualitas Semen Pada Berbagai Jenis Bangsa Sapi. Dibimbing oleh **Muhammad Yusuf** sebagai pembimbing utama dan **Muhammad Ihsan. A. Dagong** sebagai pembimbing anggota.

Teknik *thawing* melalui variasi durasi sangat menentukan kualitas spermatozoa semen beku post *thawing*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dan menemukan waktu *thawing* semen beku pada berbagai jenis bangsa sapi yang optimal. Penelitian dengan perlakuan waktu *thawing* yaitu, P1 (30 detik), P2 (45 detik) dan P3 (60 detik). Parameter yang diamati yaitu motilitas, viabilitas, dan abnormalitas pada data bangsa sapi Bali, Brahman, Limosin dan Simental. penelitian ini dianalisis menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK). Hasil menunjukkan adanya pengaruh nyata ($P < 0,01$) waktu *thawing* yang berbeda terhadap motilitas, viabilitas dan abnormalitas pada berbagai bangsa sapi. Waktu *thawing* optimal pada waktu 60 detik sangat nyata dibandingkan ($P < 0,01$) dengan waktu *thawing* 30 dan 45 detik. Motilitas dan viabilitas bangsa sapi Bali nyata ($P < 0,01$) lebih rendah dibandingkan dengan bangsa sapi Brahman, Limosin dan Simental. Abnormalitas spermatozoa sapi Bali tidak berbeda nyata dibandingkan spermatozoa bangsa sapi Brahman dan Limosin. Bangsa sapi Bali berbeda nyata ($P < 0,01$) dibandingkan bangsa sapi Simental. Dapat disimpulkan bahwa lama waktu *thawing* mempengaruhi motilitas, viabilitas dan abnormalitas pada semua bangsa sapi. Waktu *thawing* yang optimal pada berbagai bangsa sapi berada pada lama *thawing* 60 detik dibandingkan dengan *thawing* selama 30 dan 45 detik. Bangsa sapi yang optimal pada setiap perlakuan yaitu bangsa sapi Simental.

Kata Kunci: Waktu *thawing*, semen beku, bangsa sapi.

ABSTRACT

Maskun Muslimin, NIM: I11114552. Effect of Duration Thawing on Semen Quality in Various Breeds of Bull. Supervised by **Muhammad Yusuf** as the main mentor and **Muhammad Ihsan. A. Dagong** as member mentor.

Thawing technique through variations in duration greatly determines the quality of post-thawing frozen semen spermatozoa. This study aims to determine the effect and find the optimal thawing time of frozen semen on various types of bull breeds. Research with thawing durations treatment, namely, P1 (30 seconds), P2 (45 seconds) and P3 (60 seconds). The parameters observed were motility, viability and abnormality in the data of Bali bull, Brahman, Limousine and Simmental bull breeds. This study was analyzed using a Randomized Block Design. The results showed that there was a significant effect ($P < 0,01$) of different thawing durations on motility, viability and abnormality in various breeds of bull. Optimal thawing duration was different at 60 seconds was very significant compared ($P < 0,01$) with the thawing time of 30 and 45 seconds. The motility and viability of Bali bull is significantly ($P < 0,01$) lower than those of the Brahman, Limousine and Simmental bull. Spermatozoa abnormality of Bali bull were not significantly different from that of Brahman and Limousine bull. Bali bull were significantly different ($P < 0,01$) compared to Simmental bull breeds. It can be concluded that the length of thawing time affects motility, viability and abnormality in all breeds of bull. The optimal thawing time for various breeds of bull was at 60 seconds of thawing time compared to 30 and 45 seconds of thawing. The optimal breed of bull in each treatment was Simmental bull.

Keywords: Thawing time, frozen semen, bull breeds

KATA PENGANTAR



Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah *Subhanahu wata'ala* atas berkat rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan makalah hasil penelitian, dengan judul “**Pengaruh Waktu *Thawing* Terhadap Kualitas Semen Pada Berbagai Jenis Bangsa Sapi**”. Terimakasih kepada kedua orang tua tercinta **Alm. Bapak Muslimin** dan **Ibu Hj. Kasmawati** yang dengan sepenuh hati memberikan dukungan moril maupun spiritual serta ketulusan doanya sehingga penulisan makalah hasil penelitian ini dapat terselesaikan. Penulis menyadari bahwa banyak pihak yang ikut berpartisipasi dan membantu dalam penyelesaian makalah ini, oleh karena itu penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. **Prof. Ir. Muhammad Yusuf, S.Pt., Ph.D., IPU** selaku pembimbing utama yang senantiasa meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam mengarahkan dan membimbing penulis untuk menyelesaikan makalah hasil penelitian ini
2. **Dr. Muhammad Ihsan. A. Dagong, S.Pt., M.Si** selaku pembimbing anggota yang telah memberikan bimbingan serta arahan selama penyusunan makalah ini.
3. **Dr. Ir. Wempie, M.Sc** selaku penasehat akademik penulis yang telah memberikan nasehat-nasehat selama berkuliah
4. kakanda **Ir. Sahiruddin, S.Pt., M.Si., IPM** dan **Athar Manabi Diansyah, S.Pt** yang telah membantu penulis dalam pelaksanaan penelitian di Laboratorium Semen Processing

5. Teman-teman peternakan, terutama **ANT 14** beserta semua pihak yang telah membantu penyelesaian makalah ini. Semoga makalah usulan penelitian ini dapat bermanfaat dan menambah khazanah Ilmu pengetahuan.

Makassar, September 2021

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
PENDAHULUAN	1
TINJAUAN PUSTAKA.....	4
Inseminasi Buatan (IB)	4
Semen Beku	6
Motilitas Spermatozoa.....	8
Viabilitas Spermatozoa.....	11
Abnormalitas Spermatozoa.....	14
METODE PENELITIAN	16
Waktu dan Tempat	16
Materi Penelitian	16
Prosedur Penelitian.....	16
Metode Pelaksanaan	17
Rancangan Penelitian	19
Parameter yang Diamati	19
Analisis Data	19
HASIL DAN PEMBAHASAN	21
Motilitas pada Berbagai Bangsa Sapi dengan Waktu <i>Thawing</i> yang Berbeda.....	21
Viabilitas pada Berbagai Bangsa Sapi dengan Waktu <i>Thawing</i> yang Berbeda.....	22

Abnormalitas pada Berbagai Bangsa Sapi dengan Waktu	
<i>Thawing</i> yang Berbeda	23
KESIMPULAN DAN SARAN	25
Kesimpulan	25
Saran	25
DAFTAR PUSTAKA	26
LAMPIRAN	30
RIWAYAT HIDUP	59

DAFTAR TABEL

No.	Halaman
1. Presentase motilitas pada berbagai bangsa sapi dengan waktu <i>thawing</i> yang berbeda.....	21
2. Presentase viabilitas pada berbagai bangsa sapi dengan waktu <i>thawing</i> yang berbeda.....	22
3. Presentase abnormalitas pada berbagai bangsa sapi dengan waktu <i>thawing</i> yang berbeda.....	23

DAFTAR GAMBAR

No.	Halaman
Gambar 1. Diagram Alir <i>Thawing</i> Semen Beku.....	17

DAFTAR LAMPIRAN

No.	Halaman
1. Hasil perhitungan univariate analysis of variance motilitas pada berbagai bangsa sapi dengan waktu <i>thawing</i> yang berbeda.....	31
2. Hasil perhitungan univariate analysis of variance viabilitas pada berbagai bangsa sapi dengan waktu <i>thawing</i> yang berbeda.....	39
3. Hasil perhitungan univariate analysis of variance abnormalitas pada berbagai bangsa sapi dengan waktu <i>thawing</i> yang berbeda.....	48

PENDAHULUAN

Peningkatan produktivitas dan reproduksi ternak sapi salah satunya dengan menggunakan program Inseminasi Buatan (IB). IB merupakan salah satu teknologi tepat guna yang dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan produktivitas sapi dengan memanfaatkan potensi pejantan unggul agar dapat mengawini lebih banyak induk.

IB merupakan salah satu teknologi tepat guna untuk meningkatkan populasi dan produksi ternak secara kualitatif maupun kuantitatif dengan menggunakan semen pejantan yang bebas penyakit dan mempunyai mutu genetik tinggi. Pejantan yang berkualitas secara genetik akan memberikan kontribusi besar terhadap keturunannya, karena semen yang berkualitas merupakan syarat utama yang harus dipenuhi untuk aplikasi IB. Sejalan dengan hal tersebut diperlukan seleksi untuk memilih pejantan dengan performans yang baik. Hal ini berkaitan dengan kemampuan pejantan untuk mengawini sejumlah betina, memproduksi spermatozoa dan tingginya fertilitas. Pejantan memegang peranan yang penting pada pelaksanaan IB terutama sebagai penghasil spermatozoa. Menurut Yimer *et al.* (2011) bahwa fertilitas pada pejantan lebih penting daripada sapi betina.

Semen beku adalah semen yang diencerkan menurut prosedur tertentu, lalu dibekukan jauh di bawah titik beku air (Hertoni, 2007). Tantangan dalam keberhasilan IB di lapangan adalah rendahnya kualitas dan penanganan semen beku yang digunakan, kondisi reproduksi, manajemen ternak dan ketrampilan inseminator (Sitepu *et al.*, 1996). Salah satu penentu kualitas semen beku adalah teknik *thawing* yang digunakan oleh para inseminator di lapangan. Teknik

thawing yang kurang tepat menyebabkan banyak sel semen yang mengalami penurunan kemampuan pembuahan.

Penentuan spermatozoa layak untuk IB, kualitas spermatozoa diperiksa dengan berbagai metode, antara lain: persentase motilitas, daya hidup, intak akrosom dan morfologi normal (Foote, 2002). Morfologi spermatozoa digunakan sebagai salah satu kriteria penting dalam evaluasi kualitas semen (Vilakazi and Webb, 2004). Berdasar metode tersebut, persentase motilitas dan morfologi spermatozoa merupakan kriteria penting pada evaluasi kualitas sperma sebelum digunakan untuk IB. Motilitas dan morfologi spermatozoa merupakan sebagian faktor yang menentukan keberhasilan fertilisasi. Jika kualitas dari ejakulat tidak diperiksa secara benar, maka kerugian ekonomi dapat timbul baik pada pengaturan maupun prosedur pelaksanaan IB (Ostermeier *et al.*, 2000).

Penilaian motilitas, viabilitas dan morfologi spermatozoa dapat dilakukan segera sesudah koleksi semen atau post *thawing* pada semen beku sebelum IB. Bervariasinya kualitas semen beku post *thawing* pada berbagai bangsa sapi menunjukkan belum adanya suatu teknik yang dapat memberikan hasil optimum tercapainya fertilisasi dengan semen beku sapi (Salim *et al.*, 2012). Di Jerman *thawing* dilakukan menggunakan air yang bertemperatur 34°C selama 15 detik, sedangkan di Amerika Serikat *thawing* biasanya dilakukan pada air es yang bertemperatur 5°C selama 5 – 6 menit (Toelihere, 1993). *Thawing* pada air yang bertemperatur 38°C - 40°C menghasilkan daya hidup yang lebih baik jika dibandingkan dengan temperatur lebih rendah (Toelihere, 1993). Salisbury dan Van Demark (1985) menyatakan bahwa *thawing* pada temperatur 5°C menghasilkan motilitas lebih baik jika dibandingkan dengan 38°C.

Hasil survey (Affandhy *et al.*, 2006) di Kabupaten Blora, Jawa Tengah diketahui bahwa para inseminator melakukan *thawing* lebih dari 1 menit (>60 detik) yaitu 900 - 1800 detik (15 - 30 menit) dengan menggunakan air sumur atau PDAM. Menurut pendapat mereka hal tersebut tidak berefek pada kualitas semen yang diinseminasikan walaupun pada kenyataannya angka service per conception di wilayah tersebut tinggi (2,7 - 2,8%) yang membuktikan sering terjadinya kawin berulang pada sapi induk yang diinseminasikan sehingga berakibat pada rendahnya angka kebuntingan, yaitu <60% (Affandhy *et al.*, 2006). menurut Romjali *et al.* (2007), berdasarkan survey di Kabupaten Batang, Jawa Tengah, beberapa inseminator melakukan *thawing* dengan waktu 15 - 45 menit. Berdasarkan uraian tersebut, maka dibutuhkan penelitian mengenai waktu *thawing* pada berbagai bangsa sapi. Oleh karena itu, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah bagaimana pengaruh waktu thawing terhadap kualitas semen pada bangsa sapi ?

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dan menemukan waktu *thawing* semen beku pada berbagai bangsa sapi yang optimal. Kegunaan penelitian ini adalah untuk menemukan waktu *thawing* semen beku pada berbagai bangsa sapi yang optimal.

TINJAUAN PUSTAKA

Inseminasi Buatan (IB)

Inseminasi buatan berasal dari kata artificial insemination (inggris), kunstmatige inseminatie (Belanda), isemination artificielle (Prancis) atau kunstliche besamung (Jerman). Artificial artinya tiruan atau buatan, sedangkan isemination berasal dari kata latin inseminatus artinya pemasukan, penyampaian, deposisi, sedangkan semen adalah cairan yang mengandung sel-sel kelamin jantan yang diejakulasikan melalui penis pada waktu kopulasi atau penampungan. (Feradis, 2010)

IB sendiri adalah pemasukan semen ke dalam saluran kelamin betina dengan menggunakan alat-alat buatan manusia, bukan secara alami. IB pertama kali diperkenalkan oleh seorang ahli fisiologis Italia yang bernama Lazzaro Spallanzani yang telah berhasil dilakukan pada anjing. Kemudian IB diperkenalkan di Indonesia oleh Prof. B. Seit pada tahun 1950-an (Taurin dkk, 2000).

IB pada sapi perah telah dilakukan di Asia pasifik lebih dari setengah abad yang lalu dan saat ini diprediksi lebih dari 75% sapi perah telah menggunakan teknologi reproduksi ini. IB yang dilakukan secara terus menerus akan meningkatkan produktivitas sapi potong, akan tetapi menggunakan IB juga dapat menghilangkan sifat ternak lokal dan menurunkan angka jarak beranak (Thornton, 2010). IB didalam pelaksanaannya terdiri dari koleksi semen, proses pembekuan dan deposisi semen pada alat reproduksi betina, sehingga memungkinkan spermatozoa untuk mengalami fertilisasi seperti halnya proses alami (Hopkins and Evans, 2003).

IB bertujuan untuk membentuk bangsa baru ternak melalui persilangan dengan pejantan unggul (Toelihere 1981). Dengan teknologi IB akan dihasilkan pedet yang lebih besar dengan laju pertumbuhan yang cepat sehingga dapat diperoleh bobot potong yang tinggi. Susilawati (2011) menyatakan bahwa salah satu manfaat dari IB adalah mampu memperbaiki mutu genetik ternak.

Priyanto (2003) menyatakan, penerapan teknologi IB tidak berpengaruh terhadap penyediaan daging di Indonesia, yang diprediksi berdasarkan distribusi semen beku tahunan. Kondisi tersebut terjadi karena tidak seimbangnya distribusi semen beku dan angka kelahiran. Pada tahun 1997 - 2000, rasio rata-rata kelahiran pedet dibanding realisasi distribusi semen hanya mencapai 38,26% atau tergolong rendah. Namun, pada wilayah ternak sapi potong, teknologi IB dapat meningkatkan produktivitas sapi dengan bobot badan yang tinggi (keturunan Limousin dan Simental), seperti di Daerah Istimewa Yogyakarta (Setiadi *et al.*, 1997). Sebagai ilustrasi, realisasi distribusi semen beku pada tahun 1997-2000 mencapai 1.211.206 *straw* dengan angka kelahiran 38,26% dan hasil pedet 463.407 ekor (Priyanto, 2003). Dengan asumsi penambahan bobot daging sapi hasil IB dibanding sapi lokal 100 kg/ekor maka suplai daging akan bertambah 46.340,7 ton atau memberi kontribusi 11,58% dari target swasembada.

Teknologi IB diminati peternak sapi perah maupun sapi potong. Untuk efektivitas IB, semen sebaiknya tidak didistribusikan secara merata pada semua wilayah, tetapi selektif pada wilayah dengan pola pemeliharaan intensif, khususnya sumber bibit sapi potong. Tidak efektifnya distribusi semen menyebabkan persentase kelahiran rendah akibat tingginya *Service Per Conception* (SC) dan rendahnya *Conception Rate* (CR). Keberhasilan IB

ditentukan oleh beberapa faktor, yakni SDM peternak, keterampilan inseminator, dan sarana pendukung (peralatan) (Sitepu *et al.*, 1997). Menurut Toelihere (1985) angka kebuntingan ternak hasil IB di Indonesia berkisar 40-70%. Angka ini semakin meningkat seiring bertambahnya keterampilan para inseminator dan bertambahnya tingkat perhatian petani terhadap kondisi reproduksi ternaknya (pengamatan berahi).

Semen Beku

Semen beku adalah semen yang telah diberikan bahan pengencer yang mengandung krioprotektan, dibekukan dan disimpan dalam nitrogen cair suhu -196 C. Saat pembekuan spermatozoa akan mengalami kerusakan terutama pada bagian membran plasma. Kerusakan membran spermatozoa menurut Nalley dan Arifiantini (2011) dapat dikurangi dengan penambahan omega-3 dalam bahan pengencer. Omega-3 adalah lemak-lemak yang umumnya dijumpai dalam minyak ikan dan minyak nabati serta merupakan asam lemak poli tak jenuh. Omega-3 memiliki kandungan asam lemak tak jenuh atau *Polyunsaturated Fatty Acid* (PUFA) serta *Eicosa Pentaenoic Acid* (EPA) dan *Docosahexaenoic Acid* (DHA) sebagai pelindung membran plasma.

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 menyebar luaskan penyakit baik viral maupun bakteri serta pemakaian semen beku secara besar-besaran akan membatasi jumlah pejantan yang dipakai dan mungkin akan mempersempit dasar genetik suatu bangsa tertentu.

Kehidupan spermatozoa harus dipertahankan 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 fertilisasi 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 kontinu 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.

Motilitas Spermatozoa

Pratiwi *et al.*, (2009) yang melaporkan *Post Thawing Motility* (PTM) tertinggi pada semen sapi Limousin dan Brahman pada perlakuan lama thawing air ledeng PDAM selama 0 menit masing – masing sebesar 41,5% dan 40,0%. persentase motilitas individu cenderung mengalami penurunan pada teknik thawing dengan suhu 15°C berdurasi 30 detik dan tekhnik thawing dengan suhu 5°C berdurasi 60 detik. Ini menunjukkan bahwa bila suhu thawing semakin rendah dan durasi thawing yang panjang menyebabkan terjadi penurunan daya motilitas individu (Ade *et al.*, 2012).

Perlakuan temperatur thawing 5°C secara signifikan berbeda nyata dengan 37°C namun tidak berbeda nyata dengan temperatur thawing 26°C, hal ini disebabkan bahwa proses pencairan sebenarnya sudah dimulai semenjak dikeluarkan dari kontainer depo. Pengeluaran ministraw dari kontainer ini secara otomatis akan meningkatkan suhu (*thawing* alami) dari suhu beku menuju suhu ruang (Utomo dan Boquifai, 2010).

Peningkatan motilitas secara signifikan terjadi pada temperatur 37°C, sebagaimana disebutkan bahwa optimal motilitas oleh karena pengaruh suhu terjadi pada temperatur 37°C (Peters and Ball, 1995). Pada temperatur 5°C dan 26°C terjadi aktifitas metabolisme yang belum optimal sehingga akan menyebabkan pergerakan individunya masih relatif terbatas, sedangkan pada temperatur 37°C pergerakan dicapai optimal oleh karena energi yang dihasilkan oleh metabolisme juga secara maksimal (Utomo dan Boquifai, 2010).

Thawing pada air yang bersuhu 37°C - 38°C akan menghasilkan motilitas spermatozoa yang lebih baik dibanding suhu *thawing* yang lebih rendah. Proses

metabolisme yang meningkat pada suhu 37°C tidak akan mengurangi substrat energi spermatozoa sehingga motilitas spermatozoa akan tinggi karena tidak kekurangan energi (Zenichiro *et al.*, 2002). *Thawing* dengan air yang bersuhu 37°C dapat membantu semen untuk melewati masa kritisnya dengan cepat karena suhu tersebut sama dengan temperatur tubuh ternak (Laing, 1970). Secara rata-rata *thawing* menggunakan suhu 5°C, 26°C dan 37°C adalah baik karena menghasilkan motilitas di atas 40% saat akan di IB kan sebagaimana Hafez (1993) yang mensyaratkan motilitas pasca *thawing* adalah 40 – 75% dan berdasarkan Laporan BIB Singosari (2004) yang menyatakan motilitas pasca *thawing* yang baik adalah harus di atas 40%.

Pada interaksi tidak ada yang nyata antara temperatur dan lama *thawing* terhadap motilitas spermatozoa. Hal ini disebabkan bahwa lama waktu *thawing* yang ditetapkan belum cukup memberikan pengaruh signifikan terhadap motilitas, sedangkan terhadap temperatur *thawing* kisaran 5°C, 26°C merupakan temperatur alami yang pasti akan dilalui selama proses pencairan menuju aktifitas optimal yang akan dicapai hingga temperatur 37°C (Utomo dan Boquifai, 2010).

Al-Badry (2012) dalam penelitiannya melaporkan, bahwa *thawing* semen beku di dalam air 5°C menunjukkan hasil yang berbeda signifikan terhadap *thawing* didalam air bersuhu 37°C dan 60°C. Semen beku yang *dithawing* dalam air 5°C menghasilkan motilitas yang lebih rendah jika dibandingkan dengan *thawing* dengan air bersuhu 37°C maupun 60°C. Hasil ini tidak berbeda jauh dengan penelitian Salim *et al.* (2012) yang menggunakan semen beku dari tiga bangsa sapi, yaitu: sapi Bali, Madura dan PO serta digunakan tiga perlakuan suhu

thawing yang berbeda, yakni: 5°C, 15°C dan 37°C. Dari penelitian tersebut dilaporkan persentase motilitas terbaik yaitu pada perlakuan dengan suhu 37°C.

Chaiprasat *et al.*,(2006), melaporkan terjadi penurunan spermatozoa motil progresif seiring berkurangnya suhu *thawing* seperti penelitiannya pada semen beku sapi diperoleh hasil *thawing* pada suhu 37°C durasi 30 detik yaitu 51,04%, 30°C durasi 30 detik yaitu 40,41%, 25°C durasi 30 detik yaitu 39,79%, dan suhu telapak tangan durasi 30 detik yaitu 10 %. Samsudewa dan Suryawijaya (2008) juga melaporkan bahwa durasi *thawing* yang terlalu lama, maka terjadi penurunan motilitas individu sampai pada kualitas yang tidak bisa dipakai lagi untuk IB (<40%) yaitu pada *thawing* dengan air es selama 30 menit dan 60 menit masing-masing $37,50 \pm 1,8\%$ dan $25,00 \pm 1,82\%$ pada sapi Simental dan $40,00 \pm 1,64\%$ dan $20,00 \pm 1,14\%$ pada sapi Limousin, hal ini disebabkan karena suhu *thawing* terlalu rendah, yang tidak sesuai dengan kondisi fisiologis pergerakan spermatozoa, sehingga daya gerak spermatozoa rendah.

Hasil rata-rata analisis menunjukkan bahwa rata-rata persentase motilitas spermatozoa setelah perlakuan terbaik pada sapi Madura di setiap perlakuan. Hal ini disebabkan sapi Madura memiliki keunggulan dari sisi genetik dengan produksi semen yang memiliki kualitas yang baik. Chandolia *et al.*, (1999) menyatakan genetik juga mempunyai peran dalam daya tahan spermatozoa dari pengaruh kejutan panas pada saat proses *thawing*. Herwijanti *et al.*,(2004) yang melaporkan bahwa Sapi Madura dengan libido yang cepat 21,47 detik, memiliki daya motilitas sebesar 71,67% dibandingkan dengan sapi Bali yang memiliki libido 60,87 detik memiliki daya motilitas sebesar 67,33%.

Viabilitas Spermatozoa

Kondisi spermatozoa dengan *thawing* pada air bersuhu 37°C berdurasi 15 detik belum menyebabkan terjadinya tekanan osmotik secara ekstrim pada membran spermatozoa, sehingga permeabilitas membran utuh dan tidak terganggu, ini menjamin fluiditas dan keseimbangan homeostatis membran sel karena pertukaran senyawa-senyawa berlangsung secara normal (Ade *et al.*, 2012).

Durasi *thawing* yang singkat belum menyebabkan terjadinya peningkatan aktivitas metabolisme spermatozoa yang berakibat menurunkan daya tahan hidup. Peningkatan aktivitas metabolisme menghasilkan asam lemak dalam konsentrasi yang tinggi akibat peroksidasi lipid. Membran spermatozoa tersusun dari protein lipid, dan karbohidrat yang tersusun secara nonkovalen dan sangat sensitif terhadap faktor-faktor ekstrinsik seperti suhu, kekuatan ionic dan polaritas pelarut (Park and Graham, 1992).

Adanya perubahan suhu yang tidak sesuai secara ekstraseluler, maka permeabilitas fosfolipid hidrofilik rusak menyebabkan fluiditas membran terganggu sehingga terjadi kematian spermatozoa. Ditambahkan Datta *et al.*, (2009), Lipidperoksidasi (LPO) dan kerusakan membran spermatozoa disebabkan karena selama proses thawing terbentuk radikal bebas metabolit oksigen yang bersifat toxic pada tingkatan yang rendah di dalam sel spermatozoa bersamaan dengan suplai oksigen yang terbatas, bersamaan pula dengan produksi radikal bebas pada pemulihan oksigen yang dipasok ke sel. Hal ini menimbulkan spekulasi bahwa peningkatan mendadak dalam pemanfaatan oksigen oleh spermatozoa menyebabkan peningkatan produksi radikal bebas, sehingga terjadi

peningkatan lipidperoksidasi sebagai faktor penyebab kerusakan membran spermatozoa.

Ansary *et al.*, (2010) melaporkan bahwa terjadi penurunan pada persentase viabilitas semen beku kerbau Ravi Nilli pada *thawing* yang durasinya semakin panjang dimana viabilitas tertinggi yaitu pada durasi *thawing* 30 detik pada air bersuhu 37°C sebesar 79,3% dan menurun menjadi 77,0% pada durasi *thawing* 60 detik pada air bersuhu 37°C. Suhu *thawing* dan durasi yang tidak sesuai mengakibatkan membran spermatozoa mengalami kerusakan sebagai akibat cekaman panas dan kontak dengan oksigen. Membran spermatozoa yang tersusun dari fosfolipid mengalami reduksi karena timbulnya asam lemak dari proses peroksidasi sel (Ade *et al.*, 2012).

Suhu *thawing* yang terlalu rendah yaitu suhu 26°C menghasilkan persentase viabilitas spermatozoa yang rendah karena kondisi dari membran spermatozoa yang rusak. Hal ini sesuai dengan pernyataan Yudhaningsih (2004), bahwa suhu yang rendah akan mengakibatkan substansial vital dalam spermatozoa bocor sehingga enzim intraseluler, lipoprotein, ATP, Kalium intraseluler dan fosfolipid berkurang dan menyebabkan kerusakan pada membran plasma spermatozoa, sehingga persentase dari viabilitas spermatozoa menjadi menurun (Fauzan *et al.*, 2014).

Suhu *thawing* yang terlalu tinggi yaitu suhu 42°C menghasilkan persentase viabilitas spermatozoa yang paling rendah dari semua suhu yang diuji yaitu 42,57%. Pada suhu 42°C akan lebih lama menyesuaikan ke suhu lingkungan melalui, konduksi, konveksi dan evaporasi. Sientje (2003) menyatakan bahwa apabila suhu air *thawing* lebih tinggi daripada suhu lingkungan maka sebagian

panas akan hilang dari suhu air karena diserap oleh lingkungan yang suhunya lebih rendah dari suhu air *thawing* sehingga mengakibatkan pada saat thawing, suhu air akan mengalami penurunan di lingkungan tersebut melalui transfer panas dengan cara konveksi terhadap suhu lingkungan maka akan menyebabkan penurunan persentase spermatozoa hidup. Suhu tinggi juga menyebabkan proses metabolisme pada spermatozoa menjadi lebih cepat sehingga spermatozoa lebih cepat kehabisan energi dan menghasilkan asam laktat yang tinggi akibat peroksidasi lipid yang menyebabkan spermatozoa lebih cepat mati (Fauzan *et al.*, 2014).

Persentase viabilitas spermatozoa pada waktu *thawing* 10, 15 dan 20 detik menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($P < 0,05$) hasil waktu *thawing* 10 detik menunjukkan viabilitas spermatozoa yang rendah yaitu 36,34%. Waktu *thawing* 10 detik termasuk waktu *thawing* yang singkat sehingga akan mempengaruhi stabilitas membran spermatozoa sehingga segmen intraseluler seperti mitokondria dan lisosom dapat berubah dengan cepat menjadi kristal-kristal es yang dapat menyebabkan permeabilitas pada dinding membran spermatozoa tidak berfungsi dengan baik sehingga zat warna dapat masuk ke dalam spermatozoa tanpa terkontrol (Pratama *et al.*, 2018).

Hasil waktu *thawing* 15 dan 20 detik adalah 50,80% dan 57,21%. Pada waktu *thawing* tersebut menunjukkan hasil viabilitas spermatozoa diatas 50%, meskipun berbeda nyata dan waktu *thawing* 20 detik merupakan yang terbaik karena dapat memberikan persentase viabilitas spermatozoa yang lebih tinggi daripada waktu *thawing* 15 detik. Hal ini disebabkan dinding membran spermatozoa masih berfungsi dengan baik sehingga zat warna tidak dapat masuk

ke dalam spermatozoa, maka spermatozoa akan tampak transparan sehingga diperoleh persentase viabilitas spermatozoa yang tinggi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Yudhaningsih (2004) bahwa permeabilitas membran dari spermatozoa utuh dan berfungsi baik, maka pewarna tidak akan bisa masuk ke dalam spermatozoa.

Abnormalitas Spermatozoa

Semen ternak sapi bisa menyimpan sel spermatozoa pada beberapa bentuk abnormalitas sperma. Campbell, *et al.*, (2003), mengatakan semen ternak yang bermutu tinggi mengandung maksimum 5 sampai 15% sperma yang abnormal. Abnormalitas spermatozoa merupakan kelainan fisik dari spermatozoa yang terjadi karena pada saat proses pembentukan spermatozoa dalam tubuli seminiferi (abnormalitas primer) maupun karena proses perjalanan spermatozoa melalui saluran-saluran organ kelamin jantan (abnormalitas sekunder). Abnormalitas juga dapat disebabkan preparasi yang kurang tepat (Arsiwan *et al.*, 2014). Sedangkan Garner dan Hafez (2000), menyatakan persentase abnormalitas sel spermatozoa yang normal digunakan pada inseminasi buatan mempunyai tolak ukur abnormalitas spermatozoa berkisar antara 5 sampai 20%.

Abnormalitas morfologi spermatozoa dapat terjadi secara primer, sekunder atau tersier. Abnormalitas primer terjadi pada proses spermatogenesis dalam testis, sedangkan abnormalitas sekunder terjadi selama perjalanan spermatozoa di epididimis (Hafez *et al.*, 2000; Parkinson, 2004). Toelihere (1981) dan SNI Semen Beku Nasional (2005) yang merekomendasikan abnormalitas di bawah 20%, masih layak dipakai untuk IB. Hal ini mengindikasikan bahwa suhu dan lama *thawing* pada semua perlakuan belum banyak menyebabkan spermatozoa

menjadi abnormal. Penyebabnya karena pada suhu dan durasi *thawing* pada semua perlakuan belum memberikan tekanan yang ekstrim secara mekanis sehingga spermatozoa menjadi abnormal seperti halnya ciri khas suatu spermatozoa yang mengalami abnormalitas tersier.

Hasil pengamatan kebanyakan abnormalitas yang terjadi yaitu spermatozoa yang ekor atau kepalanya terputus atau patah. Namun kondisi ini bukan disebabkan karena *thawing*, melainkan diduga karena proses preparasi seperti pembuatan preparat ulas. Yulnawati *et al.*, (2009) melaporkan abnormalitas tersier terjadi kemungkinan karena pembuatan preparat ulas yang menyebabkan kepala atau ekor spermatozoa putus. Hasil analisis statistik juga menunjukkan bahwa bangsa sapi tidak berpengaruh nyata terhadap abnormalitas spermatozoa. Hasil ini menunjukkan bahwa spermatozoa ke tiga bangsa sapi tidak terpengaruh dengan adanya perlakuan *thawing*, tetapi abnormalitas yang terjadi diduga disebabkan karena adanya kesalahan dalam preparasi ataupun ejakulasi.

Arifiantini *et al.*, (2006) menjelaskan bahwa abnormalitas sekunder kemungkinan disebabkan karena kesalahan dalam preparasi atau ejakulasi., sedangkan Barth and Oko (1989), menjelaskan bahwa abnormalitas pada ekor disebabkan karena ejakulasi yang tidak sempurna dan shock terhadap suhu. Rata-rata sebanyak $12,87 \pm 1,09\%$ spermatozoa Sapi Bali teridentifikasi mengalami abnormalitas morfologi. Hasil tersebut menunjukkan bahwa semen beku Sapi Bali tahun penyimpanan di bawah 10 tahun masih dapat digunakan untuk inseminasi buatan. Setiap spermatozoa yang abnormal tidak dapat membuahi sel telur, selama abnormalitas spermatozoa belum mencapai 20% maka semen tersebut masih dapat dipakai untuk inseminasi (Riyadhi *et al.*, 2010).