



**EFEKTIVITAS *PREFREEZING* SEMEN SAPI JAWA SEBAGAI
PARAMETER KEBERHASILAN *PROCESSING* SEMEN BEKU**

*(The prefreezing effectiveness of semen of Java cattle as the successful
parameter of frozen semen processing)*

R. Purwasih, Y. S. Ondho, dan Sutopo

Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas *prefreezing* terhadap gerakan individu dan persentase hidup spermatozoa pada sapi Jawa. Materi yang digunakan adalah semen sapi Jawa yang berasal dari 6 kali ejakulasi. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan (T0 tidak dilakukan *prefreezing*; T1 *prefreezing* 5 menit; T2 *prefreezing* 9 menit dan T3 *prefreezing* 13 menit) dengan enam kali ulangan. Parameter yang diamati gerakan individu dan persentase hidup spermatozoa. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa efektivitas *prefreezing* tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap gerakan individu dan persentase hidup spermatozoa sapi Jawa. Disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang nyata pada parameter yang diamati. Disarankan agar dilakukan penelitian lebih lanjut pada parameter yang lain, seperti pemeriksaan abnormalitas, evaluasi integritas membran plasma berupa keutuhan membran plasma ataupun keutuhan akrosom.

Kata Kunci : sapi Jawa; *prefreezing*; gerakan individu; persentase hidup

ABSTRACT

The objectives of this study were to determine the prefreezing effectiveness for motility and the percentage of live spermatozoa in cattle Java. The material used was semen of Java cattle originated from 6 times ejaculation. The Complete Randomized Design (CRD) was used with four treatments (T0 : control; T1 : prefreezing time of 5 minutes; T2 : prefreezing time of 9 minutes and T3 : prefreezing time of 13 minutes) and six replications at each treatment. Parameters observed were motility and percentage of live spermatozoa. The results showed that the difference in the length of time of prefreezing did not significant ($P > 0.05$) on sperm motility and percentage of live cattle Java. It was concluded that there was not significant different on parameters observed. It is recommended that further research should be done on other parameters, such as the semen abnormalities, evaluation of plasma membrane integrity both on plasma membrane and the acrosome integrities.

Key words: Java cattle; *prefreezing*; motility; percentage of sperm live

PENDAHULUAN

Inseminasi Buatan (IB) merupakan proses penempatan semen di dalam vagina, sesuai dengan kawin alami dan dilakukan dengan bantuan alat untuk melakukannya. Semen dibutuhkan untuk proses IB. Semen yang berkualitas ini dapat diperoleh melalui tahapan yang baik saat proses penampungan semen, penanganan dan pembuatan semen beku (Djanuar, 1985). *Prefreezing* adalah proses setelah semen diisikan ke dalam straw yang dilakukan dengan cara diletakkan di *canister* dan digantungkan dalam uap nitrogen cair selama beberapa menit. Proses *prefreezing* akan mempengaruhi gerakan individu atau daya gerak sperma, persentase hidup dan abnormalitas sperma. Lama waktu *prefreezing* menurut beberapa sumber adalah beragam. Straw yang telah diisi semen diletakkan dipermukaan nitrogen cair ± 4 cm dengan suhu berkisar antar -110°C s/d -120°C selama 9 menit (Standar Operasional Pelayanan BIB Ungaran, 2011). Amin *et al.* (1998) dalam penelitiannya menerapkan lama waktu *prefreezing* adalah 10 menit 8 cm diatas permukaan nitrogen cair (suhu sekitar -130°C). Salamon (1971) menyatakan bahwa ketika semen (0,03 ml) yang diuapkan (*prefreezing*) selama beberapa menit sebelum direndam nitrogen cair, akan mempertahankan persentase gerakan individu spermatozoa setelah diperiksa *post thawing motility* (PTM).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas *prefreezing* terhadap gerakan individu dan persentase hidup spermatozoa pada sapi Jawa. Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah dapat memberikan informasi tentang efektivitas *prefreezing* dalam proses pembuatan semen beku sapi Jawa.

MATERI DAN METODE

Bahan dan alat percobaan

Materi yang digunakan adalah semen sapi Jawa yang berasal dari 6 kali ejakulasi pada 4 sapi yang berbeda. Bahan yang digunakan meliputi susu skim, antibiotik, kuning telur, glukosa, gliserin dan aquabides untuk membuat pengencer, air hangat (37°C) untuk *thawing*, larutan eosin 0,2% untuk membuat preparat dan larutan eosin 2% untuk pemeriksaan konsentrasi, pH indikator, nitrogen cair untuk *freezing*.

Peralatan penelitian meliputi vagina buatan untuk penampungan semen, termos air panas, tabung berskala, spuit 20 ml dan 10 ml, pipet, kompor listrik, gelas ukur 200 ml, lemari es, mini straw, pinset, gunting, bantal listrik, *storage container*, termometer, rak kayu, *object glass*, *deck glass*, mikroskop, bunsen, tisu, *stopwatch*, *container*.

Metode percobaan

Penampungan semen sapi Jawa dengan menggunakan vagina buatan. Semen pada masing-masing ejakulasi segera mengevaluasi semen yaitu secara makroskopis (volume, warna, bau, konsistensi dan pH) dan mikroskopis (gerakan

massa, gerakan individu, konsentrasi, persentase hidup). Pengenceran semen dengan menggunakan susu skim, antibiotik, kuning telur, glukosa, gliserin dan aquabides dan diisikan kedalam mini straw. Straw yang berisi semen diletakan pada jarak ± 4 cm diatas nitrogen cair (*prefreezing*) pada suhu -110°C . Lama waktu proses *prefreezing* yang dicobakan adalah sebagai berikut :

1. T0 = straw tanpa *prefreezing*
2. T1 = straw dengan lama *prefreezing* 5 menit
3. T2 = straw dengan lama *prefreezing* 9 menit
4. T3 = straw dengan lama *prefreezing* 13 menit

Straw kemudian dibekukan dalam nitrogen cair dengan suhu -196°C . Semen beku kemudian dicairkan kembali (*thawing*) yaitu dengan memasukan straw kedalam air hangat bersuhu 37°C selama 30 detik selanjutnya diperiksa gerakan individu dan persentase hidup spermatozoa sapi Jawa.

Parameter yang diamati

Parameter kualitas semen sapi Jawa yang diamati adalah gerakan individu dan persentase hidup spermatozoa setelah PTM (*post thawing motility*) yang dilengkapi pula data pendukung evaluasi rata-rata semen segar. Pengamatan gerakan individu dilihat dengan mikroskop, dihitung di semua lapangan pandang. Metode pewarnaan eosin 2% adalah metode yang dilakukan dalam pemeriksaan persentase hidup spermatozoa. Perhitungan persentase hidup sperma menurut Mumu (2009) adalah sebagai berikut :

$$\text{Persentase hidup} = \frac{\text{Sel sperma hidup}}{\text{Sel sperma hidup} + \text{Sel sperma mati}} \times 100\%$$

Analisis data

Metode analisis yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan 4 perlakuan perbedaan lama waktu *prefreezing* dan 6 kali ulangan. Data dalam bentuk persentase ditransformasikan terlebih dahulu dengan menggunakan *Arc sine transformation for proportion* untuk data persebaran 0-100% dan transformasi akar kuadrat dengan persebaran data 0-30% dan 70-100% (Snedecor dan Cochran, 1989). Apabila terdapat perbedaan ragam taraf signifikan 1% dan 5% maka dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kualitas Semen Segar Sapi Jawa

Pada penelitian ini telah dilakukan penampungan sebanyak 6 kali ejakulasi untuk memperoleh semen segar. Semen segar diperiksa kualitasnya secara makroskopis dan mikroskopis. Secara makroskopis, semen segar mempunyai pH 6,8; volume 5,72 ml dan warna putih susu dengan konsistensi sedang. Pemeriksaan secara mikroskopis semen sapi Jawa, mempunyai motilitas 70%;

persentase hidup 79,35%; persentase abnormalitas 13,27% dan konsentrasi 1607×10^6 spermatozoa/ml (Tabel 1). Berdasarkan karakteristik yang dievaluasi, dapat dinyatakan bahwa semen segar sapi Jawa layak untuk digunakan proses lebih lanjut menjadi semen beku.

Tabel 1. Rata-rata Kualitas Semen Segar Sapi Jawa

Karakteristik	Rata-rata
Derajat keasaman (pH)	6,8
Volume (ml)	5,72
Warna	Putih susu
Konsistensi	Sedang
Gerakan massa	2+
Motilitas (%)	70
Hidup (%)	79,35
Abnormalitas (%)	13,27
Konsentrasi (10^6 spermatozoa/ml)	1607

Rataan kualitas semen segar sapi Jawa secara makroskopis dan mikroskopis relatif berbeda dengan sapi Peranakan Ongole (PO) yang dilaporkan oleh Affandhy *et al.* (2009) yaitu pH 7; volume 3,8 ml; warna putih susu; konsistensi sedang; gerakan massa 2+; motilitas 70,6%; persentase hidup 79,1%; persentase abnormalitas 0-3% dan konsentrasi sperma $1171,3 \times 10^6$ spermatozoa/ml.

Derajat keasaman pada semen segar sapi Jawa adalah 6,4-8, hal ini tidak sesuai dengan pernyataan Toelihere (1993) yaitu pH semen secara umum antara 6,4-7,8. Derajat keasaman semen segar tergantung kepada proporsi cairan yang tergabung dalam semen tersebut. Volume semen sapi Jawa hasil penelitian berkisar antara 3,5-11,6 ml/ejakulasi. Hal ini berbeda dengan Ax *et al.* (2000) bahwa volume semen normal yang dihasilkan oleh sapi pejantan per ejakulasi adalah sebanyak 5-8 ml. Volume semen akan bertambah sesuai umur, besar tubuh, tingkatan makanan, perubahan keadaan kesehatan reproduksi, frekuensi penampungan dan akan menurun sesudah mencapai puncak dewasa (Toelihere, 1993). Penelitian Mathevon *et al.* (1998) menunjukkan bahwa faktor genetik dapat mempengaruhi volume semen. Semen segar hasil penelitian memiliki warna putih susu dan krem. Menurut Djanuar (1985) bahwa umumnya semen pada sapi jantan berwarna putih seperti susu sampai warna krem. Warna ini disebabkan oleh pigmen riboflavin yang menurut banyak pendapat, tidak berpengaruh apa-apa terhadap spermatozoa. Konsistensi semen segar sapi Jawa hasil penelitian adalah encer-sedang. Derajat kekentalan atau konsistensi dan sifat-sifat semen berbanding lurus dengan konsentrasi spermatozoa dalam semen tersebut.

Semen segar yang dapat diproses lebih lanjut menjadi semen beku adalah semen yang memiliki gerakan massa ++. Standarisasi semen segar untuk dapat diproses lebih lanjut menjadi semen beku adalah memiliki motilitas $\leq 70\%$ (Standar Operasional Pelayanan BIB Sidomulyo Ungaran, 2011). Sorenson (1979) menyatakan bahwa konsentrasi semen sapi jantan sebanyak $800-1200 \times 10^6$ /ml. Djanuar (1985) menyatakan bahwa umumnya konsentrasi spermatozoa sejalan

dengan perkembangan seksual dan kedewasaan sapi pejantan, kualitas pakan yang diberikan, pengaruh kesehatan reproduksi dan besar testis. Persentase hidup dan mati dipengaruhi oleh pengencer (Hunter,1995). Persentase hidup dan mati sangat dipengaruhi oleh suhu, sinar matahari secara langsung dan guncangan yang berlebihan Toelihere (1993). Standarisasi untuk semen segar agar dapat diproses lebih lanjut menjadi semen beku adalah memiliki persentase hidup $\geq 70\%$ (Standar Operasional Pelayanan BIB Sidomulyo Ungaran, 2011).

Efektivitas *prefreezing* terhadap gerakan individu spermatozoa sapi Jawa

Rata-rata lama waktu *prefreezing* terhadap gerakan individu spermatozoa sapi Jawa diperlihatkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata Gerakan individu Spermatozoa Sapi Jawa

Perlakuan	Rata-rata ------(%)-----
T0	1,26 \pm 1,25
T1	1,90 \pm 1,25
T2	2,27 \pm 1,25
T3	1,98 \pm 1,25

Pada Tabel 1 ditunjukkan bahwa gerakan individu spermatozoa terendah terdapat pada perlakuan T0 (tanpa *prefreezing*) yaitu 1,26 \pm 1,25%. Hal tersebut disebabkan spermatozoa mati karena mengalami *cold shock*. Spermatozoa akan rusak bila dibekukan langsung pada suhu dibawah 0°C, karena terjadi kejutan temperatur (*cold shock*) yang akan mengakibatkan sperma kehilangan persentase hidupnya.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa persentase gerakan individu tidak berbeda ($P > 0,05$) terhadap perlakuan. Rata-rata gerakan individu spermatozoa dalam batas yang tidak normal. Menurut Garner dan Hafez (2000) bahwa hasil *Post Thawing Motility* (PTM) yang diamati memiliki gerakan individu $\leq 40\%$. Artinya semen-semen tersebut tidak layak untuk inseminasi buatan. Syarat minimal nilai PTM agar semen dapat dipergunakan dalam inseminasi buatan adalah 40%. Sumardani *et al.* (2008) menyatakan bahwa kecenderungan penurunan persentase gerakan individu dapat disebabkan oleh aktivitas spermatozoa, akibatnya substrat energi di dalam plasma semen cepat habis dan terdapat akumulasi asam laktat sebagai sisa metabolisme dengan konsentrasi lebih tinggi yang bersifat toksik pada spermatozoa. Gerakan individu sperma sangat dipengaruhi oleh ketersediaan suplai energi dalam sperma yang dihasilkan dalam metabolisme berupa ATP. Metabolisme dapat berlangsung dengan baik apabila membran sperma dalam keadaan utuh (Ax *et al.*, 2000).

Efektivitas *prefreezing* terhadap persentase hidup spermatozoa sapi Jawa

Hasil rata-rata lama waktu *prefreezing* terhadap persentase hidup spermatozoa sapi Jawa diperlihatkan pada Tabel 3. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa lama waktu *prefreezing* tidak berbeda nyata ($P>0,05$) terhadap persentase hidup spermatozoa.

Tabel 3. Rata-rata Persentase Hidup Spermatozoa sapi Jawa

Perlakuan	Rata-rata
	------(%)-----
T0	36,10 ± 4,04
T1	41,74 ± 4,04
T2	41,72 ± 4,04
T3	39,29 ± 4,04

Tidak adanya perbedaan yang nyata pada persentase hidup spermatozoa ini diduga disebabkan oleh interval waktu yang rendah antar perlakuan *prefreezing*. Berdasarkan parameter yang diamati T0 memiliki persentase hidup $\leq 40\%$. Persentase hidup dan mati sangat dipengaruhi oleh suhu, sinar matahari secara langsung dan guncangan yang berlebihan Toelihere (1993). Standarisasi semen beku yang layak untuk diinseminasikan adalah memiliki persentase hidup $\geq 40\%$ (Standar Operasional Pelayanan BIB Sidomulyo Ungaran, 2011).

SIMPULAN DAN SARAN

Disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang nyata terhadap parameter yang diamati yaitu efektivitas *prefreezing* terhadap gerakan individu dan persentase hidup spermatozoa sapi Jawa.

Disarankan agar dilakukan penelitian lebih lanjut pada parameter yang lain, contohnya adalah pemeriksaan abnormalitas, evaluasi integritas membran plasma baik keutuhan membran plasma ataupun keutuhan akrosom.

DAFTAR PUSTAKA

- Affandhy, L., W. C. Pratiwi dan D. Ratnawati. 2009. Kualitas Semen Pejantan Sapi Peranakan Ongole (PO) dengan Perlakuan Pemberian Suplemen Tradisional Berbeda. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner 2009.
- Amin, M.R., Toelihere, M. R., Tuty, Yusuf dan Situmorang, P. 1998. Pengaruh Plasma Semen Sapi terhadap Kualitas Semen Beku Kerbau Lumpur (*Bubalus bubalis*). Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner 4: 143-147.
- Ax, R.L., M. Dally, B.A. Didion, R. W. Lenz, C.C. Love, D.D. Varner, B. Hafez, and M.E. Bellin. 2000. Semen Evaluation. In : B. Hafez, and E.S.E. Hafez (Eds). Reprod. in Farm Anim. 7th Ed, Lippincott William & Wilkins : Baltimore, USA : 365-375.

- Djanuar, R. 1985. Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Garner, D.L. and E.S.E. Hafez. 2000. Spermatozoa and Seminal Plasma. *In*: E.S.E. Hafez and B. Hafez (Eds). *Reprod. in Farm Animals*. 7th Ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia : 96-109.
- Hunter, R. H. F. 1995. Fisiologi dan Teknologi Reproduksi Hewan Betina Domestik. Institut Teknologi Bandung, Bandung. (Diterjemahkan oleh D.K. H. Putra).
- Mumu, M. I. 2009. Viabilitas Semen Sapi Simmental yang Dibekukan Menggunakan Krioprotektal *Gliserol*. Universitas Tadulako, Sulawesi Tengah. (Skripsi).
- Mathevon, M., M. Buhr and J.C.M. Dekkers. 1998. Environmental, Management and Genetic Factors Affecting Semen Production in Holstein Bulls. *J. Dairy Sci.* 81 :3321-3330.
- Salamon, S. 1971. Fertility of ram spermatozoa following pellet freezing on dry ice at -79°C and -140°C . *Aust. J. Biol. Sci.* 24: 183-185.
- Snedecor, G.W. and W.G. Cochran. 1989. *Statistical Methods*. 8th Ed. Iowa State University Press.
- Sorenson Jr., A.M. 1979. *Laboratory Manual for Animal Reproduction*. 4th Ed. American Press. Boston. USA.
- Standar Operasional Pelayanan (SOP) BIB Ungaran (Petunjuk Teknis). 2011. BIB Sidomulyo Ungaran, Semarang (Tidak dipublikasikan).
- Sumardani, N.L.G., Tuty, L.Y. dan Pollung, H.S. 2008. Viabilitas Spermatozoa Babi dalam Pengencer *Beltsville Thawing Solution* (BTS) pada Tiga Tempat Penyimpanan Berbeda. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner 2008. *Media Peternakan* 31 : 81-86.
- Toelihere, M.R. 1993. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Cetakan Ketiga. Angkasa, Bandung.