



**PENGARUH PERBEDAAN WAKTU PELEPASAN WATER JACKET
DALAM PROSES EKUILIBRASI TERHADAP KUALITAS SEMEN BEKU
SAPI JAWA PADA TAHAP *BEFORE FREEZING* DAN *POST THAWING*
(*Effect of different water jacket release time in equilibration process on quality
semen of Java cattle at before freezing and post thawing*)**

A. D. Tuhu, Y. S. Ondho dan D. Samsudewa

Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang

ABSTRACT

This experiment was conducted to investigate effect of different water jacket release time on frozen semen quality with two step methods. The semen was collected from four heads Java cattle, extended with skim-egg yolk extender. The extended semen packed with water jacket then release with different time (treatments) T₀ (35 minutes), T₁ (10 minutes) and T₂ (60 minutes) until all equilibration process was finish. Data analysis preparing with normality and homogeneity testing, when the data was normal and homogeneous will be followed by analysis of variance (ANOVA). The result showed average of semen quality before freezing T₀; T₁ and T₂ for pH 6,27; 6,27 and 6,43; motility (%) 40,83; 36,67 and 32,50; live sperm percentage (%) 29,68; 33,97 and 22,20; sperm abnormality (%) 20,82; 13,26 and 14,16 respectively. Average of *post thawing* T₀; T₁ and T₂ for pH 6,27; 6,27 and 6,27; motility (%) 5; 2,92 and 0,42; live sperm percentage (%) 11,21; 12,90 and 19,24; sperm abnormality (%) 22,11; 19,26 and 22,82 respectively. Statistical analysis showed the different water jacket release time did not significantly different ($P>0,05$) to quality semen of Java bulls at before freezing or post thawing observation.

Key words : Equilibration, water jacket, frozen semen, Java cattle.

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh perbedaan waktu pelepasan *water jacket* terhadap kualitas semen beku sapi Jawa dengan metode dua tahap. Semen ditampung dari 4 ekor sapi Jawa dewasa, kemudian diencerkan dan dimasukkan ke dalam *water jacket*, kemudian dilepas pada waktu yang berbeda (perlakuan) T₀ (35 menit), T₁ (10 menit) dan T₂ (60 menit) hingga proses ekuilibrasi selesai kemudian dilanjutkan dengan proses pembekuan (*freezing*). Desain penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dengan 3 perlakuan dan 6 ulangan. Data yang diperoleh dianalisis dengan *analysis of variance* ANOVA. Hasil pemeriksaan *before freezing* perlakuan T₀, T₁ dan T₂ untuk pH sebesar 6,27; 6,27 dan 6,43; motilitas (%) sebesar 40,83; 36,67 dan 32,50; persentase hidup (%) yaitu 29,68; 33,97 dan 22,20; persentase abnormalitas (%) yaitu 20,82; 13,26 dan 14,16. Rata – rata hasil pemeriksaan pada *post thawing* T₀, T₁ dan T₂ terhadap pH sebesar 6,27; 6,27 dan 6,27 motilitas (%) sebesar 5; 2,92 dan 0,42; persentase hidup (%) yaitu 11,21; 12,90 dan 19,24; persentase

abnormalitas (%) yaitu 22,11; 19,26 dan 22,82. Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa perlakuan perbedaan waktu pelepasan *water jacket* tidak memberi pengaruh yang nyata ($P>0,05$) terhadap kualitas semen sapi Jawa pada tahap *before freezing* dan *post thawing*.

Kata kunci : Ekuilibrasi, *water jacket*, semen beku, sapi Jawa

PENDAHULUAN

Sapi Jawa merupakan plasma nutfah Indonesia yang perlu mendapat perhatian dalam rangka pelestarian jenisnya. Kondisi lapangan yang ada menunjukkan usaha untuk melestarikan masih minim, yang sebenarnya memiliki potensi untuk dikembangkan. Sapi Jawa memiliki keunggulan antara lain resisten terhadap serangga, tahan terhadap kondisi lingkungan dan pakan yang terbatas, kualitas kulit bagus dan struktur dagingnya padat, persentase karkas berkisar antara 45 - 50 % yang sebenarnya menguntungkan peternak (Disnakkeswan-Jateng, 2011). Pelaksanaan IB (Inseminasi Buatan) merupakan salah satu usaha untuk meningkatkan populasi sapi Jawa. Pelaksanaan IB membutuhkan ketersediaan semen beku atau semen segar yang memadai, sedangkan pada kenyataannya semen beku sapi Jawa belum memiliki standar khusus dalam pembuatannya, hal ini yang menuntut perlu adanya standarisasi produksi semen beku sapi Jawa.

Semen adalah cairan suspensi seluler yang mengandung gamet jantan atau spermatozoa dan merupakan sekresi kelenjar asesoris pada saluran reproduksi jantan. Cairan dari suspensi yang terbentuk saat ejakulasi disebut seminal plasma (Ax *et al.*, 2000). Peningkatan kualitas semen beku sangat ditentukan oleh pemrosesan spermatozoa dari saat koleksi, pengenceran sampai dengan dibekukan, sehingga dapat menaikkan angka kebuntingan (Pratiwi *et al.*, 2006). Pada proses produksi semen beku dengan metode dua tahap terdiri dari beberapa tahapan, antara lain koleksi semen, pengenceran, ekuilibrasi, *filling* dan *sealing*, *pre freezing* dan *freezing* (Balai Inseminasi Buatan Ungaran, 2011). Tahap ekuilibrasi merupakan faktor penting dalam keberhasilan pembuatan semen beku. Waktu ekuilibrasi didefinisikan sebagai waktu yang dibutuhkan oleh krioprotektan untuk mencapai keseimbangan pada kedua sisi membran plasma (Bearden *et al.*, 2004). Pada proses ekuilibrasi terdapat tahapan dimana saat semen diletakkan dalam *water jacket*. *Water jacket* adalah *beaker glass* berisi air dari *water bath* yang digunakan untuk melindungi campuran semen dan pengencer dari penurunan suhu drastis yang menyebabkan cekaman dingin (*cold shock*) yang umumnya digunakan dalam pembuatan semen beku dengan metode dua tahap (Balai Inseminasi Buatan Ungaran, 2011 dan Sutiyono, 1999).

Pada semen sapi Jawa belum adanya penelitian tentang semen beku dengan perlakuan waktu yang berbeda saat diletakkan dalam *water jacket* sehingga penelitian ini perlu dilakukan untuk memperoleh kualitas semen beku yang baik dengan waktu ideal yang lebih efisien. Menurut pendapat Bearden *et al.*, (2004) pada pembekuan semen domba, waktu ekuilibrasi pada suhu 5°C terbaik adalah 2 jam dan 4 jam pada rusa. Pada semen sapi *Friesian Holstein* (FH) (Arifiantini *et*

al., 2005) juga melakukan ekuilibrasi selama 4 jam dengan suhu 5°C. Han *et al.*, (2005) membandingkan waktu ekuilibrasi pada pembekuan semen itik dengan waktu 10 dan 60 menit, ternyata ekuilibrasi selama 10 menit menunjukkan kualitas semen setelah *thawing* lebih baik dibandingkan 60 menit

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kualitas semen segar dan pengaruh perbedaan waktu pelepasan *water jacket* dalam proses ekuilibrasi terhadap kualitas semen sapi Jawa pada tahap sebelum pembekuan (*before freezing*) dan *post thawing*. Manfaat yang diperoleh adalah dapat meningkatkan efisiensi pada proses pembuatan semen beku, terutama dalam pembuatan semen beku sapi Jawa, selain itu dapat digunakan sebagai dasar pemikiran dalam pembuatan semen beku khususnya sapi Jawa.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di Kelompok Tani Ternak (KTT) Cikoneng Sejahtera Desa Malahayu, Kecamatan Banjarharjo, Kabupaten Brebes, Jawa Tengah pada tanggal 1 Agustus sampai dengan 12 Oktober 2012. Materi yang akan digunakan dalam penelitian yaitu semen yang ditampung dari 4 ekor pejantan sapi Jawa yang dipelihara oleh Kelompok Tani Ternak Cikoneng Sejahtera. Bahan yang digunakan adalah zat pewarna (Eosin), NaCl fisiologis, susu skim, kuning telur, fruktosa, asam sitrat, antibiotik (penisilin dan streptomisin), gliserol, *aquabidest* dan nitrogen cair. Peralatan yang digunakan meliputi vagina buatan untuk proses penampungan semen, kandang penjepit betina, *water heater*, tambang, tabung berskala untuk mengetahui volume semen yang didapatkan, kertas lakmus untuk mengetahui derajat keasaman, *haemocytometer* untuk menghitung konsentrasi, mikroskop untuk melihat motilitas, *object glass*, *deck glass*, dan bunsen untuk evaluasi semen dan pemeriksaan persentase hidup mati dan abnormalitas spermatozoa, gelas beaker, kertas saring, dan gelas ukur untuk membuat pengencer semen, kulkas, *stopwatch*, *straw*, rak *straw*, kateter, *styrofoam box*, *container*, dan alat tulis untuk mencatat hasil yang didapatkan.

Pelaksanaan penelitian dimulai dengan menampung semen dari 4 pejantan sapi Jawa menggunakan vagina tiruan, selanjutnya dilakukan evaluasi semen segar secara makroskopis (volume, konsistensi, warna, pH) dan mikroskopis (gerakan massa, gerakan individu, sperma hidup dan abnormalitas). Semen segar yang memenuhi syarat kemudian diencerkan dengan pengencer skim kuning telur secara merata dan dibagi sesuai perlakuan waktu pelepasan (*water jacket*) yang diberikan yaitu :

T₀ : waktu pelepasan *water jacket* 35 menit

T₁ : waktu pelepasan *water jacket* 10 menit

T₂ : waktu pelepasan *water jacket* 60 menit

Proses pembuatan semen beku menggunakan metode dua tahap yaitu sebagai berikut :

1. Semen yang memenuhi syarat dicampur dengan larutan *buffer* antibiotika dan kuning telur (campuran A) yang disimpan dalam *water bath* suhu 27 °C , kemudian dimasukkan dalam *beaker glass* berisi air dari *water bath* (*water*

jacket) kemudian disimpan dalam *cold top* suhu 4 – 5 °C selama 10 menit, 35 menit dan 60 menit (perlakuan perbedaan waktu pelepasan).

2. Lima puluh menit kemudian dilakukan pencampuran dengan campuran A ekstra yang telah disiapkan dalam *cold top*.
3. Pencampuran dengan (buffer antibiotika, gliserin, kuning telur dan glukosa) dilakukan 4 kali setiap 15 menit di dalam *cold top* (gliserolisasi).
4. Setelah tahapan selesai dilanjutkan dengan pemeriksaan *before freezing*.
5. Proses *filling* dan *sealing*
6. *Prefreezing straw* yang sudah berisi semen cair dan disusun pada rak, kemudian dibekukan di atas permukaan nitrogen cair (N₂) dalam *storage container* dengan suhu (– 110⁰ C sampai dengan - 120⁰ C) selama 9 menit, lalu straw tersebut disimpan dalam N₂ cair yang suhunya mencapai – 196⁰ C.
7. Setelah 24 jam dilanjutkan dengan *thawing* pada suhu 37⁰ C selama 29 detik untuk pemeriksaan *post thawing* dilakukan dengan pengulangan dua kali.
8. Pengumpulan data. Parameter yang diamati yaitu motilitas, persentase hidup dan abnormalitas spermatozoa. Motilitas spermatozoa diukur dengan cara meneteskan semen dibagian tengah pada *object glass* kemudian ditutup dengan *deck glass* dan diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 40x10. Pemeriksaan persentase hidup dan abnormalitas spermatozoa, diawali dengan meneteskan 1 tetes eosin 0,2% diatas gelas objek, kemudian menambahkan 1 tetes semen yang dicampur dengan ujung gelas objek yang lain. Kemudian membuat preparat apus dan memanaskannya diatas bunsen. Preparat tersebut diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 40x10. Jumlah sperma yang diamati makin banyak makin baik, minimal 200 spermatozoa.

Metode Penelitian dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 3 taraf waktu pelepasan *water jacket* dan 6 ulangan. Parameter yang diamati pada tahap *before freezing* dan *post thawing*. Data diuji menggunakan *software microsoft excel* dan SPSS versi 15.0 diawali dengan uji normalitas dan homogenitas, untuk data normal dan homogen, dilanjutkan dengan ANOVA, apabila diperoleh signifikansi pada taraf 5% atau 1 % maka dilanjutkan dengan uji BNT dan uji wilayah duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kualitas Semen Segar Sapi Jawa

Berdasarkan data pada Tabel 1 kualitas rata-rata semen segar sapi Jawa secara makroskopis diperoleh hasil: volume 5,72 ml/ ejakulasi, pH 6,8, warna krem dan konsistensi sedang. Hasil ini tidak terlalu jauh berbeda dengan sapi lokal lainnya seperti sapi Bali yang dilaporkan oleh Ratnawati *et al* (2008) mempunyai volume 4,5 ml/ejakulasi, konsistensi sedang – kental, warna krem dan putih susu, pH 6,5 – 7,2. Tingkat kemampuan reproduksi seekor sapi jantan dari segi libido dan kualitas semen. sangat dipengaruhi oleh tingkat konsumsi energi dalam ransum yang dikonsumsi (Affandhy *et al.*, 1995).

Tabel 1. Kualitas Rata – Rata Semen Segar Sapi Jawa

Pemeriksaan	Hasil rata – rata
Makroskopis	
- Volume (ml)	5,72
- pH	6,8
- Warna (krem, putih susu, bening)	Krem
- Konsistensi (kental, sedang, encer)	Sedang
- Bau	Spermin
Mikroskopis	
- Konsentrasi (juta)	1606,67
- Gerakan massa (1+, 2+, 3+)	2,2+
- Motilitas (%)	70
- Persentase Hidup (%)	79,35
- Persentase Abnormalitas (%)	13,27

Pemeriksaan kualitas semen segar sapi Jawa secara mikroskopis diperoleh konsentrasi $1606,7 \times 10^6/\text{ml}$, gerakan massa 2,2+, motilitas 70 %, persentase hidup 79,35 % dan persentase abnormalitas 13,27 %. Hasil pengamatan tersebut tidak terlalu jauh berbeda dengan kualitas semen segar sapi lokal lain seperti sapi Madura yang dilaporkan oleh Affandhy *et al* (1995) mempunyai konsentrasi $550,80 \times 10^6/\text{ml}$, motilitas 47,92 %, persentase hidup 96,26 % dan abnormalitas 7,51 %. Didukung pula oleh hasil penelitian lain mengenai kualitas semen segar sapi Bali yang dilaporkan oleh Ratnawati *et al* (2008) mempunyai konsentrasi $1309,3 \times 10^6/\text{ml}$, gerakan massa 2+, motilitas 80,3 %, sperma hidup 66,1 % dan sperma abnormal 1,1 (%). Abnormalitas berada dibawah 20% (Toelihere, 1981), Menunjukkan bahwa kualitas semen pada kisaran normal dan layak untuk diproses lebih lanjut. Kualitas semen segar sapi Jawa diatas layak untuk diproses menjadi semen beku sesuai dengan persyaratan BIB Ungaran (2011) yaitu volume rata – rata 5 ml, motilitas 70% dan gerakan massa 2+ sampai 3+.

Pengaruh Perlakuan terhadap pH Semen *Before Freezing* dan *Post Thawing*

Hasil pengamatan pH semen *before freezing* maupun *post thawing* dapat dilihat pada Tabel 2. Rentang pH semen *before freezing* dan *post thawing* diperoleh berturut – turut untuk T₀, T₁ dan T₂ adalah 6,27; 6,27; 6,43 dan 6,27; 6,27; 6,27. Nilai pH *before freezing* pada T₃ dalam kisaran normal menurut Garner dan Hafez (2000) yaitu antara 6,4-7,8. Secara keseluruhan nilai pH tersebut lebih rendah bila dibandingkan dengan hasil penelitian Umiyasih *et al* (1999) yang melaporkan bahwa pH semen sebelum pembekuan (*before freezing*) berkisar antara 6,6-6,7. Salisbury dan VanDemark (1985) melaporkan kondisi normal pH semen adalah 6,5 – 6,9 dengan rata-rata 6,75.

Tabel 2. Rata – Rata pH Semen Pada Pemeriksaan Segar, *Before Freezing* dan *Post Thawing*

Perlakuan Pelepasan <i>Water Jacket</i>	Tahap Pemeriksaan		
	Segar	<i>Before Freezing</i>	<i>Post Thawing</i>
T0 (35 Menit)	6,8	6,27	6,27
T1 (10 Menit)	6,8	6,27	6,27
T2 (60 Menit)	6,8	6,43	6,27

Hasil analisis ragam menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata ($P > 0,05$) antar perlakuan pada tahap *before freezing* maupun *post thawing*. Hal ini disebabkan oleh selisih waktu dari masing – masing perlakuan tidak terlalu jauh dan lama waktu pada masing - masing perlakuan bila di jumlahkan dengan waktu total ekuilibrase masih dibawah 2 jam yang biasanya berkisar 2 sampai 4 jam (Bearden *et al.*, 2004; Arifiantini *et al.*, 2005) sehingga spermatozoa dalam menyesuaikan diri dengan pengencer pada kondisi suhu yang menurun secara bertahap memiliki kemampuan yang sama dalam memproduksi asam laktat. Faktor yang mempengaruhi nilai derajat keasaman (pH) antara lain pembentukan asam laktat dalam proses metabolisme dan peningkatan jumlah asam laktat (Toelihere, 1981), lama waktu pendinginan, aktifitas dalam sel, sifat dari bahan pengencer. Samsudewa (2006) menyatakan bahwa jumlah spermatozoa yang semakin meningkat akan menyebabkan proses metabolisme spermatozoa semakin banyak menghasilkan asam laktat sehingga menurunkan pH semen. Penurunan pH terjadi dari kondisi segar ke pemeriksaan sebelum pembekuan (*before freezing*) hingga *post thawing* (Tabel 2) disebabkan oleh aktivitas sel spermatozoa dalam merespon penurunan suhu yang terjadi yaitu melakukan metabolisme sel menggunakan nutrisi dalam larutan pengencer. Semakin menurunnya suhu maka aktifitas dalam sel semakin cepat berlangsung menyebabkan produksi asam laktat meningkat yang kemudian menurunkan pH. Widjaya (2000) menyatakan semakin cepat metabolisme maka semakin banyak pula sisa metabolisme yang berupa asam laktat. Apabila kondisi pH semen menurun atau semakin asam berarti aktifitas metabolisme dalam sel semakin cepat berlangsung sehingga akumulasi asam laktat semakin banyak sebagai hasil metabolisme sel (Toelihere, 1981).

Pengaruh Perlakuan terhadap Motilitas Spermatozoa *Before Freezing* dan *Post Thawing*

Berdasarkan hasil pada Tabel 3. diperoleh motilitas spermatozoa *before freezing* dan *post thawing* pada T₀, T₁ dan T₂ sebesar 40,83%; 36,67%; 32,50% dan 5,00%; 2,92%; 0,42%. Nilai motilitas *before freezing* yang diperoleh termasuk rendah bila dibandingkan dengan beberapa hasil pemeriksaan setelah ekuilibrase sebelum pembekuan (*before freezing*) yaitu 65% (Sugiarti *et al.*, 2001), 72,25% (Arifiantini dan Yusuf, 2004) dan BIB Ungaran (2011) sebesar 55%. Hasil yang diperoleh pada *post thawing* lebih rendah dari persyaratan semen beku oleh Garner dan Hafez (2000), Standar Nasional Indonesia (2005) dan BIB ungaran (2011) yaitu 40%.

Tabel 3. Rata – Rata Motilitas Spermatozoa pada Pemeriksaan Segar, *Before Freezing* dan *Post Thawing*

Perlakuan Pelepasan <i>Water Jacket</i>	Tahap Pemeriksaan		
	Segar (%)	<i>Before Freezing</i> (%)	<i>Post Thawing</i> (%)
T0 (35 Menit)	70	40,83	5
T1 (10 Menit)	70	36,67	2,92
T2 (60 Menit)	70	32,5	0,42

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa pengaruh perlakuan terhadap motilitas spermatozoa pada *before freezing* maupun *post thawing* tidak menunjukkan perbedaan nyata ($P>0,05$). Hal ini disebabkan oleh selisih dari masing-masing waktu pelepasan yang tidak terlalu jauh dan jumlah waktu total ekuilibrasi yang kurang dari 2 jam yang biasanya berkisar 2 sampai 4 jam (Bearden *et al.*, 2004; Arifiantini *et al.*, 2005) berakibat pada ketersediaan nutrisi dalam pengencer untuk memenuhi kebutuhan spermatozoa bersifat sama maka menghasilkan motilitas yang tidak berbeda. Hasil penelitian Umar dan Magdalena (2005) menunjukkan motilitas yang semakin meningkat dengan adanya peningkatan waktu ekuilibrasi, selain itu sperma akan bertahan lebih baik setelah 4 jam ekuilibrasi bila dibandingkan setelah 2 atau 6 jam. Frandson (1992) menyatakan bahwa untuk melakukan pergerakan spermatozoa membutuhkan energi, sehingga mengakibatkan substrat energi didalam plasma semen cepat habis dan jumlah asam laktat yang tinggi yang bersifat toksik bagi spermatozoa. Selain itu pergerakan spermatozoa yang membutuhkan energi juga akan mengakibatkan penurunan motilitas seiring dengan lamanya waktu pengenceran (Salisbury dan VanDemark, 1985). Siklus krebs menghasilkan ATP dan bahan sisa H₂O dan CO₂, ATP merupakan sumber energi untuk pergerakan spermatozoa. Semakin banyak ATP yang dihasilkan semakin cepat pergerakan, maka semakin banyak energi yang dibutuhkan, sehingga dapat menyebabkan spermatozoa kehabisan energi untuk keperluan hidupnya (Widjaya, 2000).

Penurunan motilitas terjadi dari kondisi segar ke *before freezing* hingga *post thawing*. Penurunan motilitas dari tahap *before freezing* ke *post thawing* berkisar antara 32,08%-35,83% (Tabel 3) dan bila dibandingkan dengan kondisi segar sangat turun drastis. Hal ini disebabkan spermatozoa cekaman dingin (*cold shock*). Semakin tinggi cekaman dingin yang diperoleh maka semakin tinggi pula aktifitas metabolisme sel spermatozoa yang menghasilkan asam laktat ditandai dengan penurunan pH (Tabel 2). Perubahan pH semen akan mempengaruhi motilitas spermatozoa (Mafruchati, 1999). Penurunan pH di lingkungan sel akan menyebabkan terjadinya gangguan terhadap kerja enzim-enzim metabolisme, sehingga energi yang dihasilkan tidak optimal (Herdis, 2005). Energi digunakan oleh spermatozoa untuk melakukan pergerakan (motil).

Pengaruh Perlakuan terhadap Persentase Hidup Spermatozoa *Before Freezing* dan *Post Thawing*

Data persentase sperma hidup dapat dilihat pada Tabel 4 tahap *before freezing* dan *post thawing* untuk T₀, T₁, dan T₂ yaitu 29,68%; 33,97%; 22,20% dan 11,21%; 12,90%; 19,24%. Nilai persentase hidup yang diperoleh termasuk rendah bila dibandingkan dengan beberapa hasil pemeriksaan setelah ekuilibrisasi (*before freezing*) persentase sperma hidup berkisar antara 50 – 60% (Azizah dan Arifiantini, 2009; Kusumaningrum *et al.*, 2007). Pada pengamatan *post thawing* nilai yang diperoleh lebih rendah bila dibandingkan dengan beberapa hasil pengamatan persentase hidup spermatozoa oleh Affandhy *et al.*, (2007) berkisar antara 49,2-53,2% dan Sugiarti *et al.*, (2001) persentase hidup spermatozoa tahap *post thawing* berkisar antara 56,61-57,11%.

Tabel 4. Rata – Rata Persentase Hidup Spermatozoa Pada Pemeriksaan Segar, *Before Freezing* dan *Post Thawing*

Perlakuan Pelepasan <i>Water Jacket</i>	Tahap Pemeriksaan		
	Segar (%)	<i>Before Freezing</i> (%)	<i>Post Thawing</i> (%)
T0 (35 Menit)	79,35	29,68	11,21
T1 (10 Menit)	79,35	33,97	12,9
T2 (60 Menit)	79,35	22,2	19,24

Hasil uji statistik menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata antar perlakuan ($P > 0,05$) pada tahap *before freezing* maupun *post thawing*. Hal ini disebabkan oleh perubahan suhu pada setiap perlakuan yang relatif sama dan penurunan suhu drastis (*cold shock*) yang dialami seluruh perlakuan meskipun dengan waktu pelepasan *water jacket* yang berbeda. Kondisi tersebut berakibat pada konsentrasi asam laktat yang tinggi pada larutan pengencer sehingga mempengaruhi tekanan osmotik larutan. Hal ini sesuai dengan pendapat Samsudewa (2006) yang menyatakan bahwa peningkatan tekanan osmotik pada plasma semen menurunkan permeabilitas membran spermatozoa dan meningkatkan kerusakan membran. Kerusakan membran yang terjadi dapat menyebabkan kematian spermatozoa. Widjaya (2000) melaporkan bahwa semakin cepat metabolisme maka semakin banyak pula sisa metabolisme yang berupa asam laktat yang merupakan racun bagi sperma yang menyebabkan spermatozoa mati. Arifiantini *et al* (2007) menyatakan bahwa penurunan kualitas semen setelah ekuilibrisasi tidak terlalu besar, tetapi penurunan sangat besar terjadi setelah *thawing*.

Pengaruh Perlakuan terhadap Persentase Abnormalitas Spermatozoa *Before Freezing* dan *Post Thawing*

Berdasarkan hasil pada Tabel 5 menunjukkan persentase abnormalitas spermatozoa dan *post thawing* pada T₀, T₁ dan T₂ yaitu 20,82%; 13,26%; 14,16%

dan 22,11%; 19,26%; 22,82%. Persentase abnormalitas masih dalam kisaran Dahmani (2011), Toelihere (1985) dan Ax *et al.*, (2000) bahwa persyaratan nilai spermatozoa abnormal sebagai semen beku pejantan sapi potong yaitu 10-20%. Secara keseluruhan persentase abnormalitas berada dibawah kisaran Bearden dan Fuquay (2000) 20-25% yang berarti fertilitas tidak akan terganggu dan dapat digunakan untuk program IB (Toelihere, 1981).

Tabel 5. Kualitas Rata – Rata Persentase Abnormalitas Spermatozoa Pada Pemeriksaan Segar, *Before Freezing* dan *Post Thawing*

Perlakuan Pelepasan <i>Water Jacket</i>	Tahap Pemeriksaan		
	Segar (%)	<i>Before Freezing</i> (%)	<i>Post Thawing</i> (%)
T0 (35 Menit)	13,27	20,82	22,11
T1 (10 Menit)	13,27	13,26	19,26
T2 (60 Menit)	13,27	14,16	22,82

Hasil uji statistik tidak menunjukkan adanya perbedaan nyata antar perlakuan ($P > 0,05$) pada tahap *before freezing* maupun *post thawing*. Hal ini disebabkan penurunan suhu relatif sama pada setiap perlakuan waktu pelepasan *water jacket*, sehingga aktifitas spermatozoa untuk melakukan metabolisme sel sebagai bentuk respon sama pula. Akumulasi asam laktat sebagai produk akhir yang dikeluarkan terus-menerus berakibat pada tekanan osmotik cairan semen meningkat. Hal tersebut menyebabkan permeabilitas membran spermatozoa menurun sehingga terjadi pergerakan cairan sitoplasma (intraseluler) menuju larutan pengencer (ekstraseluler). Widjaya (2000) melaporkan bahwa rusaknya permeabilitas membran plasma menyebabkan cairan intraseluler keluar dan sebagian kepala spermatozoa mengalami aglutinasi sehingga sperma tidak normal mampu melakukan pergerakan. Proses pendinginan dan pemanasan kembali akan merusak lipoprotein yang ada pada membran plasma, sehingga dapat terjadi keabnormalan yang disebut keabnormalan tersier (Ax *et al.*, 2000). Persentase abnormalitas spermatozoa yang meningkat mulai kondisi segar ke *Before Freezing* hingga *Post Thawing* disebabkan oleh keseimbangan intraseluler dan ekstraseluler dalam larutan pengencer dengan spermatozoa tidak stabil pada setiap perlakuan waktu karena penurunan suhu yang drastis antara tahap *before freezing* hingga pembekuan (*freezing*). Herdiawan (2004) berpendapat bahwa perbedaan konsentrasi cairan intraseluler dengan ekstraseluler menimbulkan perubahan tekanan osmotik sel selama pembekuan, sehingga selubung lipoproteinnya pecah dan membran sel mengalami kerusakan. Kondisi tersebut dapat menyebabkan keabnormalan spermatozoa seperti pendapat Herdiawan (2004) pada tingkat laju pembekuan lambat maupun cepat pada media yang berbeda akan berpengaruh sekali pada tingkat abnormalitas spermatozoa sebagai akibat terjadinya perubahan fisik media hidupnya, baik perubahan tekanan osmotik, maupun pembentukan kristal-kristal es intraseluler. Hal tersebut dapat menyebabkan perubahan struktur spermatozoa seperti bentuk spermatozoa yang ekornya membengkok atau kepala terlepas.

KESIMPULAN

Kualitas rata-rata semen segar sapi Jawa memiliki kualitas yang baik untuk diproses sebagai semen beku. Akibat dari pengaruh ketiga perlakuan perbedaan waktu pelepasan *water jacket* pada pemeriksaan *before freezing* maupun *post thawing* kualitas semen cenderung menurun dibandingkan dengan kondisi segar meskipun antar perlakuan tidak menunjukkan perbedaan nyata. Fenomena tersebut dapat menindikasikan semen sapi Jawa belum layak untuk diproduksi sebagai semen beku pada kondisi lapangan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Dr. Ir. Yon Soepri Ondho, M.S. selaku Dosen Pembimbing Utama, Daud Samsudewa, S.Pt., M.Si., Ph.D selaku Dosen Pembimbing Anggota atas segala bimbingan dan arahan selama penyusunan jurnal. Kepada Dr. Ir. Sutopo, M.Sc., Dr. Ir. M. I. Sri Wuwuh, M.S. Dr. drh. Enny Tantini Setiatin, M.Sc. dan Alam Suryawijaya yang telah membantu dan mendukung selama jalannya penelitian. Serta kepada Rita Purwasih, Lucy Nurika Varasofiari dan Wahyuni Dwi Permatasari sebagai Tim Penelitian Sapi Jawa.

DAFTAR PUSTAKA

- Affandhy L, M. Ali Yusran dan Komarudin-Ma'sum. 1995. Studi libido dan produksi semen sapi Madura jantan dewasa Dengan skor kondisi tubuh tinggi pada pelbagai tingkatan energi ransum. *Jurnal Ilmiah Penelitian Ternak Grati* 4(1): 13-16.
- Affandhy L, P.W. Prihandini dan D. Ratnawati. 2007. Pengaruh Penggunaan Rak Straw Selama Equilibrasi Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Peranakan Ongole. *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*.
- Arifiantini, R. I., dan T. L. Yusuf. 2004. Keberhasilan penggunaan tiga pengencer dalam dua jenis kemasan pada proses pembekuan semen sapi Frisien Holstein. *Fakultas Kedokteran hewan, Institut Pertanian Bogor, Bogor*.
- Arifiantini, I., T.L. Yusuf dan N. Graha, 2005. Longivitas dan recovery rate pasca thawing semen beku sapi Fresian Holstein menggunakan bahan pengencer yang berbeda. *Buletin Peternakan* 29(2): 53-61.
- Arifiantini R I, Inan S dan San S. 2007. Penentuan Waktu Ekuilibrasi pada Pembekuan Semen Kuda Menggunakan Bahan Pengencer Susu Skim. *Animal Production* 9(3): 145- 152.
- 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 (ed). *Reproduction in Farm Animals*. 7th Ed. Lippincott William & Wilkins : Baltimore, USA.
- Azizah Dan R I Arifiantini. 2009. Kualitas Semen Beku Kuda Pada Pengencer Susu Skim Dengan Konsentrasi Gliserol Yang Berbeda. *Jurnal Veteriner* 10 (2) : 63-70.

- Balai Inseminasi Buatan Ungaran. 2011. Petunjuk Teknis (Juknis) Produksi Semen Beku. BIB Ungaran, Ungaran.
- Bearden, H. J., and J. W. Fuquay, 2000. Applied Animal Reproduction. 5th Ed. Prentice Hall. Upper Saddle River, New Jersey. pp.29.
- Bearden, H.J., J.W. Furguay and S.T. Willard, 2004. Applied Animal Reproduction. 6th Ed., Pearson Education, New Jersey.
- Dahmani, Y. 2011. Semen Evaluation Methods in Cattle. Magapor R&D Department. http://www.magapor.com/images/Veterinarios/iDoc_18.pdf. (Diakses pada tanggal 28 Ferbruari 2013 Pukul 11.04 WIB).
- Disnakkeswan-Jateng. 2011. Potensi Ternak di Jawa Tengah. http://www.deptan.go.id/disnakkeswan_jateng/detailskim.php?id=30. (Diakses pada tanggal 15 November 2012 pukul 14.00 WIB).
- Garner, D. L. and E. S. E. Hafez. 2000. Spermatozoa and Seminal Plasma. In : B. Hafez and E. S. E. Hafez (ed). Reproduction in Farm Animals. 7th Ed. Lippincott William & Wilkins : Baltimore, USA.
- Frandsen, R. D. 1992. Anatomi dan Fisiologi Ternak. Edisi ke-4. Terjemahan B. Srigandono. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Han, X.F, Z. Y. Niu, F.Z. Liu and C.S. Yang, 2005. Effect of diluents, cryoprotectants, equilibration time and thawing temperature on cryopreservation of duck semen. Poultry Science 4: 197-201.
- Herdiawan, I. 2004. pengaruh laju penurunan suhu dan jenis pengencer terhadap kualitas semen beku domba priangan. *JITV* 9(2): 98-107.
- Kusumaningrum D. A., P. Situmorang, E. Triwulanningsih Dan R.G. Sianturi. 2007. Penambahan Plasma Semen Sapi Dan Anti Oksidan Gluthatione Untuk Meningkatkan Kualitas Semen Beku Kerbau Lumpur (*Bubalus Bubalis*). Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner : 188-194.
- Mafruchati, M. 1999. Korelasi Antara Membran Spermatozoa dan Motilitas Spermatozoa pada Semen Beku Domba Setelah Dicairkan (*Post Thawing*). *J. MIPA* 4 (2) : 161-166.
- Pratiwi. W. C., L Affandhy dan D Ratnawati. 2006. Pengaruh Lama Thawing terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Limousin dan Brahman. *Animal Production* 11(1): 48 - 52.
- Ratnawati, D., L. Affandhy, W. C. Pratiwi dan P.W. Prihandini. 2008. Pengaruh Pemberian Suplemen Tradisional Terhadap Kualitas Semen Pejantan Sapi Bali. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner 116-121.
- Salisbury, G.W. Dan N.L. VanDemark. 1985. Fisiologi Reproduksi Dan Inseminasi Buatan Pada Sapi. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta. (*Diterjemahkan Oleh R. Djanuar*).
- Samsudewa, D. 2006. Pengaruh Jumlah Spermatozoa Per Inseminasi Terhadap Kualitas Semen Beku dan Penampilan Kesuburan Pada Kambing Peranakan Etawa. Universitas Diponegoro, Semarang. (Tesis Magister Ilmu ternak).

- Standar Nasional Indonesia (SNI). 2005. Semen Beku Sapi. Badan Standarisasi Nasional (BSN), SNI 01-4869.1-2005.
- Sugiarti T, P. Situmorang, E. Triwulaningsih, D. A. Kusumaningrum, Dan A. Lubis. 2001. Pengaruh pemberian antioksidan dan prolin terhadap Kualitas spermatozoa sapi setelah pembekuan. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner.
- Sutiyono, B. 1999. Penampungan dan Evaluasi Semen. Universitas Diponegoro, Semarang (Disampaikan pada kursus pembuatan semen beku di Fakultas Peternakan Undip Tanggal 26 s.d. 31 Juli 1999).
- Toeliehere, M. R. 1981. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Penerbit Angkasa. Bandung.
- Toeliehere, M. R., 1985. Inseminasi Buatan pada Ternak Cetakan II. Angkasa, Bandung.
- Umar, S dan Magdalena M. 2005. Pengaruh berbagai waktu ekuilibrase terhadap daya tahan sperma sapi limousin dan uji kebuntingan. Jurnal Agribisnis Peternakan 1(1): 17-21.
- Umiyasih U, Lukman Affandhy dan Didi Budi Wijono. 1999. Pengaruh Beberapa Bahan Pengencer Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Madura Pada Berbagai Tingkatan Konsentrasi Spermatozoa. Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner.
- Widjaya, N. 2000. Pengaruh Penambahan Vitamin B1 (*Thiamine*) dalam Pengencer Glukosa Fosfat Terhadap Kualitas Spermatozoa Domba pada Suhu 5 °C. Jurnal Ilmiah Ilmu – Ilmu Peternakan 3 (4): 15-22.