

Efektifitas Metode *Thawing* Dan Durasi Waktu *Post Thawing* Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Limousin

The Effectiveness Of The Thawing Method And Duration Of Post Thawing On The Quality Of Frozen Sperm In Limousin Cow

Nuroini H. Z.; Dr. Rokhana E., S.Pt., M.P.; Rahmawati N., S.Pt., M.P.*

Program Studi Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Islam Kediri
Jl. Sersan Suharnaji No. 38 Kota Kediri

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kualitas semen beku sapi limousin terhadap suhu *thawing* dan durasi waktu *post thawing*. Penelitian ini dilakukan pada 15 Agustus 2022 sampai 27 Agustus 2022. Penelitian ini dilakukan di laboratorium Prodi Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Islam Kediri Provinsi Jawa Timur. Penelitian ini dilakukan secara eksperimental dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK) Faktorial yang terdiri dari 2 faktor yaitu faktor A suhu *thawing* dan Faktor B durasi waktu *post thawing* dilakukan dengan 10 kali ulangan. Perlakuan yang dilakukan pada faktor A yaitu suhu *thawing* 15°C selama 30 detik dan suhu *thawing* 37°C selama 15 detik. Perlakuan faktor B yaitu durasi waktu *post thawing* selama 0 menit, 30 menit dan 60 menit. Variabel yang diamati dari penelitian ini yaitu motilitas spermatozoa, viabilitas spermatozoa, abnormalitas spermatozoa dan pH. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan metode *Analysis of Varians* (ANOVA) untuk mengetahui pengaruh perlakuan, kemudian dilanjutkan uji lanjut Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui pengaruh terbaik antar kombinasi perlakuan. Hasil dari penelitian ini menunjukkan kombinasi perlakuan metode *thawing* dan durasi *post thawing* tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$), pada metode *thawing* memberikan pengaruh tidak berbeda nyata ($P>0,05$) dan durasi waktu *post thawing* menunjukkan pengaruh sangat beda nyata ($P<0,01$). Hasil pengolahan data rata-rata tertinggi terdapat pada perlakuan durasi waktu *post thawing* 0 menit sebesar motilitas $61,62\pm 9,28$, viabilitas $64,14\pm 8,34$ sedangkan pada abnormalitas diperoleh rata-rata tertinggi pada durasi waktu *post thawing* 60 menit sebesar $12,66\pm 3,04$. Kesimpulan dari penelitian ini metode *thawing* tidak berpengaruh nyata terhadap kualitas semen beku, namun durasi waktu *post thawing* berpengaruh nyata terhadap kualitas semen beku. *Thawing* yang baik pada semen beku yang digunakan untuk IB (Inseminasi Buatan) dilakukan pada suhu 37°C dengan durasi waktu *post thawing* 0 menit maksimal 30 menit.

Kata Kunci: Sapi Limousin, Semen Beku, Motilitas, Viabilitas, Abnormalitas, Ph

ABSTRACT

This study aims to determine the quality of frozen sperm of limousin cows against thawing temperature and post thawing time duration. This research was conducted from August 15, 2022 to August 27, 2022. This research was conducted in the laboratory of the Animal Husbandry Study Program, Faculty of Agriculture, Kadiri Islamic University, Kediri, East Java Province. This study was conducted experimentally with a Factorial Randomized Group Design (RGD) consisting of 2 factors, namely factor A thawing temperature and Factor B duration of post thawing time carried out with 10 repeats. The treatment carried out on factor A was a thawing temperature of 15°C for 30 seconds and a thawing temperature of 37°C for 15 seconds. The B factor treatment is the duration of post thawing time for 0 minutes, 30 minutes and 60 minutes. The variables observed from this study are spermatozoa motility, spermatozoa viability, spermatozoa abnormality and pH. The data obtained were analyzed using the Analysis of Variance (ANOVA) method to determine the effect of treatment, then continued with the 5% Smallest Real Difference (SRD) further test to determine the best influence between treatment combinations. The results of this study showed that the combination treatment of the thawing method and the duration of post-thawing had no significant effect ($P>0.05$), the thawing method had no significant effect ($P>0.05$) and the duration of post-thawing time showed a very significant difference ($P<0.01$). The highest average data processing results were found in the treatment of 0 minute post thawing time duration of motility 61.62 ± 9.28 , viability 64.14 ± 8.34 while

for abnormalities the highest average was obtained in the 60 minute post thawing time duration of 12.66 ± 3.04 . The conclusion from this research is that the thawing method has no significant effect on the quality of frozen sperm, but the duration of post-thawing time has a significant effect on the quality of frozen sperm. Good thawing of frozen sperm used for AI (Artificial Insemination) is carried out at 37°C with a post-thawing duration of 0 minutes and a maximum of 30 minutes.

Kata Kunci: Limousin Cows, Frozen Sperm, Motility, Viability, Abnormality, Ph

PENDAHULUAN

Trobohan dalam dunia peternakan untuk pemenuhan daging sapi dengan mempercepat pertumbuhan jumlah populasi sapi adalah Inseminasi Buatan (IB). Inseminasi Buatan (IB) merupakan teknologi alternatif yang dikembangkan dalam usaha peternakan untuk meningkatkan mutu genetik dan populasi ternak sapi di Indonesia (Fachroerzi, 2013).

Terdapat kendala dalam pengaplikasian IB didalam masyarakat. Salah satunya adalah kegagalan kebuntingan. Banyak masyarakat yang mengeluhkan kendala ini. Karena kegagalan ini masyarakat harus melakukan IB 2 – 3 kali untuk satu sapi hingga sapi itu bunting. Sedangkan, untuk melakukan IB memerlukan biaya yang cukup banyak.

Pengaplikasian teknologi IB yaitu menggunakan semen beku. Semen beku sebelum digunakan harus melewati proses *thawing* terlebih dahulu. *Thawing* merupakan pencairan kembali semen yang telah dibekukan. Suhu dan lama *thawing* mempunyai pengaruh yang besar terhadap keadaan spermatozoa yaitu pada keutuhan spermatozoa dalam semen (Engki dkk., 2012). Suhu *thawing* yang baik digunakan untuk IB yaitu 37°C - 38°C selama 15 sampai 30 detik (BSN, 2008). *Thawing* dilakukan bertujuan untuk mengencerkan kembali semen beku yang semula bersuhu -196°C menuju suhu optimal hidup spermatozoa. *Thawing* sangat berpengaruh bagi kehidupan sperma dan sangat mempengaruhi kualitas sperma. Suhu *thawing* yang tidak sesuai dapat menyebabkan kualitas semen beku menurun.

Indikator rendahnya kualitas semen beku dikarenakan rendahnya motilitas massa ataupun individu, rendahnya angka viabilitas, dan tingginya angka abnormalitas (Muhammad, 2012). Menurut BSN (2008) kualitas semen beku yang baik dengan motilitas semen beku minimal 40%. Semen beku dibawa 40% dinyatakan kualitas semen beku buruk sehingga menyebabkan terjadinya kebuntingan pada ternak sangat minim.

Pembekuan spermatozoa menyebabkan rusaknya membran akrosom

pada sperma yang menyebabkan kematian spermatozoa 50%. Hal ini yang menyebabkan proses *thawing* sangatlah berpengaruh pada kualitas spermatozoa. *Thawing* yang tidak sesuai akan menyebabkan kematian lanjutan pada spermatozoa dan memperburuk kualitas spermatozoa.

MATERI DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Peternakan dan Laboratorium Peternakan Universitas Islam Kediri Kediri mulai tanggal 15 Agustus sampai 27 Agustus 2022. Alat yang di gunakan dalam penelitian ini yaitu: *container*, termometer, tabung gelas, *objek glass*, *cover glass*, gunting, mikroskop cahaya dan kamera digital, *hand counter*, pinset, *waterbath*. Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu : Penelitian ini menggunakan 60 semen beku dari sapi Limousin yang diperoleh dari BBIB Singosari Malang, larutan Eosin-Negrosin 2%.

Penelitian ini dilakukan menggunakan metode eksperimen. Rancangan yang di gunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) pola faktorial yang terdiri dari 2 faktor yaitu :

Faktor I : suhu *thawing* dan lama *thawing* (A)

A1 = 15°C selama 30 detik

A2 = 37°C selama 15 detik

Faktor II: durasi waktu *post thawing* (B)

B1 = 0 menit

B2 = 30 menit

B3 = 60 menit

Variasi perlakuan dalam penelitian ini ialah :

A1B1 = *thawing* pada suhu 15°C selama 30 detik dengan *post thawing* 0 menit

A1B2 = *thawing* pada suhu 15°C selama 30 detik dengan *post thawing* 30 menit

A1B3 = *thawing* pada suhu 15°C selama 30 detik dengan *post thawing* 60 menit

A2B1 = *thawing* pada suhu 37°C selama 15 detik dengan *post thawing* 0 menit

A2B2 = *thawing* pada suhu 37°C selama 15 detik dengan *post thawing* 30 menit

A2B3 = *thawing* pada suhu 37°C selama 15 detik dengan *post thawing* 60 menit

Diperoleh dalam penelitian ini menggunakan $2 \times 3 = 6$ kombinasi perlakuan. Setiap perlakuan diulangi sebanyak 10 kali sehingga diperoleh

60 unit perlakuan. Setiap perlakuan menggunakan menggunakan 1 unit staw sapi brangus sehingga total *straw* yang dibutuhkan sebanyak 60 *straw*.

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan Analysis of Varians (Anova) analisis sidik ragam berupa Rancangan Acak Kelompok (RAK) pola faktorial. Jika hasil perhitungan sidik ragam menunjukkan hasil yang berbeda nyata maka akan dilanjutkan dengan Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk melihat perbedaan terhadap setiap sampel perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Kombinasi Perlakuan metode *thawing* dan durasi waktu *post thawing* terhadap motilitas, viailitas, dan abnormalitas semen beku sapi Limousin

Kualitas semen beku merupakan *standart* untuk menentukan kondisi semen beku baik maupun buruk. Kualitas semen beku dilihat dari beberapa aspek yaitu motilitas, viabilitas, abnormalitas, dan pH. Kualitas semen beku dipengaruhi oleh suhu *thawing*, lama *thawing* dan durasi waktu *post thawing*. Suhu *thawing* yang terlalu tinggi atau terlalu rendah akan mengakibatkan menurunnya kualitas semen beku. Durasi waktu *post thawing* dapat mempengaruhi kualitas semen beku dikarenakan semakin lama *post thawing* akan mengakibatkan penurunan kualitas semen beku.

Penelitian dilakukan menggunakan rancangan acak kelompok dan analisis data menggunakan ANOVA (*Analysis Of Varians*). Hasil analisis menunjukkan pada perlakuan B (durasi waktu *post thawing*) F hitung < F tabel (0,01), pada perlakuan A (suhu *thawing*) dan kombinasi perlakuan AB F hitung > F tabel (0,05). Data ini menunjukkan hasil bahwa pada perlakuan B menunjukkan memiliki pengaruh sangat berbeda nyata, sedangkan perlakuan A dan kombinasi perlakuan AB menunjukkan memiliki pengaruh yang tidak berbeda nyata.

Pengaruh faktor A (suhu *thawing*) tidak berbeda nyata dikarenakan *thawing* dimulai sejak *straw* dikeluarkan dari kontainer. *Straw* yang dikeluarkan dari kontainer sudah mengalami *thawing* dengan suhu ruangan. Ruang laboratorium penelitian memiliki suhu 32°C. Seperti yang dikemukakan oleh Utomo (2010) proses pencairan sebenarnya dimulai sejak *straw* dikeluarkan dari kontainer. Pengeluaran *straw* dari kontainer menyebabkan *thawing* alami dari suhu beku menuju suhu ruangan.

Hasil analisa pada pengaruh kombinasi perlakuan metode *thawing* dan durasi waktu *post thawing* menunjukkan pengaruh yang tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) terhadap motilitas, viabilitas, dan abnormalitas semen beku sapi Limousin. Rata-rata motilitas, viabilitas, dan abnormalitas semen beku sapi Limousin tercantum pada Tabel 1.

Tabel 1. Rataan motilitas, viabilitas, dan abnormalitas pada masing-masing kombinasi perlakuan

Variabel	Perlakuan					
	A1B1	A1B2	A1B3	A2B1	A2B2	A2B3
Motilitas (%)	61,62±9,28	56,62±6,41	45,97±5,82	58,83±8,48	55,57±6,47	43,19±5,6
Viabilitas (%)	67,82±9,51	59,48±13,91	48,55±6,73	73,76±9,59	65,96±15,24	50,05±9,2
Abnormalitas (%)	9,24±2,32	11,71±1,92	12,66±3,04	11,62±2,88	11,62±2,76	11,81±3,7

Keterangan: Kombinasi perlakuan metode dan durasi waktu *post thawing* tidak menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata ($P > 0,05$) terhadap motilitas, viabilitas dan abnormalitas sperma

Berdasarkan Tabel 1. Diperoleh nilai rata-rata kualitas semen beku sapi Limousin terbesar pada tiap variabel yaitu motilitas perlakuan A1B1 = 61,61±9,28%, viabilitas perlakuan A2B1 = 73,76±9,59%, abnormalitas perlakuan A1B3 = 12,66±3,04%. Nilai rata-rata terkecil pada perlakuan tiap variabel yaitu motilitas perlakuan A2B3 = 43,19±5,62%, viabilitas perlakuan A1B3 = 42,21±12,09%, abnormalitas perlakuan A1B1 = 9,21±2,32%.

Hasil penelitian ini diperoleh dari pengamatan mikroskop yang dilakukan di laboratorium peternakan Universitas Islam Kadiri. Perlakuan yang diamati yaitu suhu *thawing* dan durasi waktu *post thawing*. Perlakuan *Thawing* dilakukan pada suhu 15°C selama 30 detik dan 37°C selama 15 detik. Perlakuan durasi waktu *post thawing* yang dilakukan yaitu pada waktu 0 menit, 30 menit dan 60 menit. Perlakuan dilakukan dengan mengamati motilitas, viabilitas, abnormalitas,

dan pH. Penelitian ini dilakukan dengan mengamati jumlah sperma dalam 2 lapang pandang. Setiap lapang pandang dihitung sebanyak 100 sperma.

Standart motilitas sperma yang baik minimal 40%. Tabel 1. Menunjukkan bahwa perlakuan A1B1, A1B2, A1B3, A2B1, A2B2, A2B3 menunjukkan nilai diatas 40%. Sesuai dengan syarat yang sesuai dengan SNI semen beku yaitu standart motilitas semen beku yaitu 40% (BSN 2017). Nilai ini menunjukkan motilitas sperma masih memiliki kualitas yang baik.

Viabilitas sperma dari hasil penelitian ini menunjukkan nilai penurunan A1B1 = 32,18%, A1B2 = 40,52%, A1B3 = 51,45%, A2B1 = 26,24%, A2B2 = 34,04%, A2B3 = 49,95%. Penurunan ini dikarenakan adanya perlakuan penelitian terhadap sperma sehingga mengakibatkan penurunan viabilitas sperma yang beragam. Penurunan ini juga dapat diakibatkan dari penyimpanan semen beku. Sesuai pendapat Rasul (2007) bahwa penurunan viabilitas spermatozoa pada semen beku mencapai 50% yang disebabkan oleh penyimpanan semen beku jangka panjang.

Diduga penurunan viabilitas semen beku pada perlakuan A1B1 dan A2B1 diakibatkan karena lama penyimpanan semen beku, namun penurunan masih dibawah 50% sehingga kualitas straw masih dikatakan baik. Penurunan viabilitas semen beku pada

perlakuan A1B2, A1B3, A2B2, A2B3 diduga karena adanya perlakuan dari penelitian.

Abnormalitas semen beku diperkirakan disebabkan adanya pengaruh dari pembuatan preparat saat pengamatan. pembentukan objek pengamatan yang tipis dimungkinkan menyebabkan ekor spermatozoa putus atau kepala putus. Sesuai pendapat Suyadi (2012) bahwa peningkatan abnormalitas sperma disebabkan pada saat pembuatan prepatat sebelum dilakukannya pengamatan.

Hasil dari pengamatan menunjukkan bahwa semen beku berkualitas baik dengan hasil abnormalitas sebesar kurang dari 20% sehingga semen beku dikatakan baik. Sesuai dengan pendapat Garner dan Hafez (2008) bahwa abnormalitas sperma tidak boleh melebihi dari 20%.

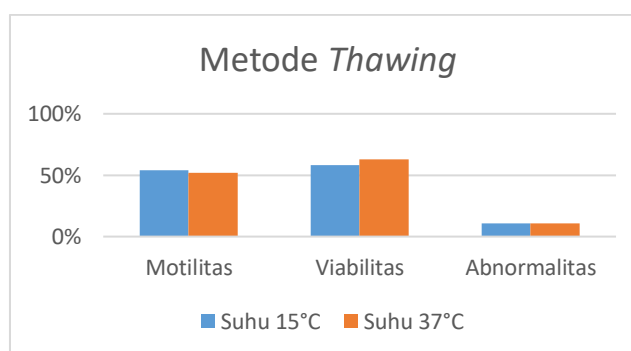
Pengaruh metode *thawing* terhadap motilitas, viabilitas, dan abnormalitas semen beku sapi Limousin

Metode *thawing* yang dilakukan dengan kombinasi suhu dan lama *thawing*. *Thawing* yang dilakukan yaitu pada suhu 15°C selama 30 detik dan suhu 37°C selama 15 detik. *Thawing* dilakukan menggunakan air ledeng yang dipanaskan menggunakan *heater* (pemanas listrik). Berdasarkan hasil penelitian, untuk mengetahui pengaruh dari metode *thawing* maka disajikan dalam tabel berikut:

Tabel 2. Rata-rata motilitas, viabilitas dan abnormalitas semen beku sapi Limousin pada metode *thawing* yang berbeda

Perlakuan	Motilitas (%)	Viabilitas (%)	Abnormalitas (%)
A1	54,74±9,70	58,62±12,91	11,20±2,80
A2	52,53±9,60	63,26±15,10	11,65±3,04

Keterangan: Perlakuan metode *thawing* yang berbeda menunjukkan pengaruh yang tidak berbeda nyata ($P>0,05$) terhadap motilitas, viabilitas, dan abnormalitas sperma



Gambar 3. Diagram Batang Metode Thawing

Rata-rata persentase motilitas semen beku sapi Limousin pada metode *thawing*

menunjukkan hasil data sebesar A1 = 54,74±9,70%, A2 = 52,53±9,60%. Rata-rata

persentase viabilitas semen beku sapi Limousin pada metode *thawing* menunjukkan hasil data sebesar $A1 = 58,62 \pm 12,91\%$, $A2 = 63,26 \pm 15,10\%$. Rata-rata persentase abnormalitas semen beku sapi Limousin pada metode *thawing* menunjukkan hasil data sebesar $A1 = 11,20 \pm 2,80\%$, $A2 = 11,65 \pm 3,04\%$. Hasil analisa menunjukkan bahwa motilitas, viabilitas, dan abnormalitas semen beku tidak berbeda nyata ($P > 0,05$).

Menurut Garner dan Hafez (2008) motilitas sperma sapi sebesar 75%, syarat pengenceran semen untuk dijadikan semen beku motilitas spermatozoa minimal 70%. motilitas semen beku dapat menurun pada waktu proses pembekuan. Hasil data rata-rata motilitas semen beku perlakuan suhu *thawing* A1 sebesar $54,74 \pm 9,70\%$ dan pada perlakuan suhu *thawing* A2 sebesar $52,53 \pm 9,60\%$. Setiap perlakuan metode *thawing* mengalami penurunan pada motilitas.. didukung juga oleh pendapat Faradina (2014) pada proses pembekuan spermatozoa sangat wajar ketika mengalami penurunan motilitas.

Rata-rata motilitas antar perlakuan A1 (suhu 15°C selama 30 detik) dan A2 (suhu 37°C selama 15 detik) menunjukkan perlakuan A1 lebih tinggi dibandingkan dengan A2. Hasil ini tidak sesuai dengan pendapat Salim (2012) bahwa motilitas terbaik terjadi pada *thawing* 37°C selama 15 detik. Hal ini dikarenakan pada suhu *thawing* 37°C merupakan suhu yang ideal bagi kehidupan spermatozoa. Didukung oleh pernyataan Utomo (2010) bahwa peningkatan motilitas secara signifikan pada suhu 37°C . Suhu 37°C dianggap suhu yang baik ketika digunakan untuk *thawing* karena suhu 37°C sama dengan suhu alami spermatozoa.

Perbedaan hasil ini diduga karena faktor pengamatan. Perlakuan A1 dan A2 dilakukan *thawing* secara bersamaan namun, pada waktu pengamatan perlakuan A1 diamati terlebih dahulu selanjutnya disusul oleh sampel A2. Terdapat jenjang waktu dalam pengamatan sampel A2. Perlakuan A2 diamati setelah 5-10 menit pada suhu ruangan 32°C menunggu sampai pengamatan perlakuan A1 selesai. Hal ini dimungkinkan menyebabkan terjadinya penurunan motilitas spermatozoa karena spermatozoa hidup tidak berada pada suhu yang ideal.

Hasil dari pengamatan perlakuan A2 memiliki kualitas dengan motilitas $52,53 \pm 9,60$. Sesuai dengan hasil penelitian Sigit (2018) dengan hasil penelitian *thawing* semen beku pada suhu 37°C selama 15 detik memiliki nilai motilitas $57,80\%$. Disini dapat dilihat hasil dari pengamatan penelitian ini masih diatas 50% .

Hasil penelitian menunjukkan bahwa motilitas spermatozoa berkualitas baik dengan rata-rata lebih dari 50% . Bintara (2011) menjelaskan, bahwa sperma dengan motilitas diatas 40% menjadi sperma yang berkualitas baik ketika digunakan sebagai inseminasi buatan Standart motilitas yang baik sebagai penilaian sperma yang baik yaitu pada motilitas 40% . Hasil ini menunjukkan bahwa suhu 15°C dan 37°C dapat digunakan untuk *thawing* dan menghasilkan sperma yang berkualitas baik.

Hasil rata-rata viabilitas semen beku menunjukkan *thawing* suhu 15°C selama 30 detik lebih rendah dibandingkan *thawing* suhu 37°C selama 15 detik. Perlakuan suhu *thawing* 37°C selama 15 detik mengalami kenaikan $4,64\%$. Hasil ini tidak sesuai dengan penelitian Salim (2012) yang mendapatkan hasil *thawing* pada suhu 37°C selama 15 detik lebih baik dibandingkan *thawing* pada suhu 15°C selama 30 detik.

Spermatozoa pada suhu *thawing* 37°C mengalami hidup di suhu optimal sedangkan pada suhu *thawing* 15°C spermatozoa tidak berada pada suhu idealnya yang menyebabkan spermatozoa mengalami kematian. Sesuai dengan pendapat Pratiwi (2007) penurunan suhu spermatozoa dari suhu kehidupan menuju suhu yang lebih rendah menyebabkan spermatozoa mengalami *cold shock* dan rusaknya dinding sitoplasma sel spermatozoa dan mengalami kematian.

Hasil penelitian abnormalitas semen beku menunjukkan pengaruh yang tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Abnormalitas semen beku dari tiap perlakuan memberikan hasil dibawah 15% . Sesuai dengan pendapat Ihsan (2009) menjelaskan abnormalitas sperma yang digunakan untuk IB tidak boleh lebih dari 20% . Hasil dari pengamatan menunjukkan abnormalitas yang kurang dari 20% .

Hasil pengamatan mendapatkan bentuk-bentuk abnormalitas kepala putus, ekor patah, ekor menggulung. Diduga pada proses pembuatan preparat dan penyimpanan semen beku mengakibatkan abnormalitas spermatozoa. Pembuatan preparat sangat berpengaruh besar terhadap abnormalitas sperma karena penggesekan preparat untuk menghasilkan objek yang sangat tipis dapat mengakibatkan putusnya ekor dan kepala sperma. Sesuai dengan pendapat Suyadi (2012) bahwa peningkatan abnormalitas sperma disebabkan pada saat pembuatan preparat sebelum dilakukannya pengamatan.

Abnormalitas spermatozoa juga dapat disebabkan karena adanya pengaruh pada

saat ejakulasi dan pada saat pembuatan straw. Seperti yang dikemukakan oleh Arifiantini (2006) menyebutkan abnormalitas sekunder pada spermatozoa terjadi disebabkan preparasi atau ejakulasi.

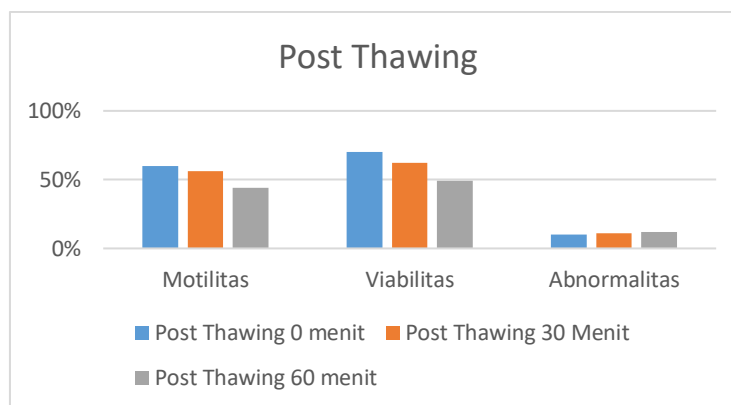
Pengaruh durasi waktu *post thawing* terhadap motilitas, viabilitas, dan abnormalitas semen beku sapi Limousin

Perlakuan durasi waktu *post thawing* yang dilakukan dengan membedakan waktu setelah *thawing*. Durasi waktu *post thawing* yang dilakukan yaitu 0 menit, 30 menit, dan 60 menit. Berdasarkan hasil penelitian, untuk mengetahui pengaruh dari durasi waktu *post thawing* maka disajikan dalam tabel berikut:

Tabel 3. Rata-rata motilitas, viabilitas dan abnormalitas semen beku sapi Limousin pada durasi waktu *post thawing* yang berbeda

Perlakuan	Motilitas (%)	Viabilitas (%)	Abnormalitas (%)
B1	60,22±8,77 ^{bc}	70,79±12,40 ^c	10,38±2,77
B2	56,10±6,29 ^b	62,72±14,58 ^b	11,66±2,31
B3	44,58±5,75 ^a	49,30±7,92 ^a	12,23±3,33

Keterangan: Notasi yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($P < 0,01$)



Gambar 4. Diagram Batang Durasi Waktu *Post Thawing*

Rata-rata persentase motilitas semen beku sapi Limousin pada metode *post thawing* menunjukkan hasil data sebesar B1 = 60,22±8,77%, B2 = 56,10±6,29%, B3 = 44,58±5,75%. Rata-rata persentase viabilitas semen beku sapi Limousin pada metode *post thawing* menunjukkan hasil data sebesar B1 = 70,79±12,40%, B2 = 62,72±14,58%, B3 = 49,30±7,92%. Rata-rata persentase abnormalitas semen beku sapi Limousin pada metode *post thawing* menunjukkan hasil data sebesar A1 = 10,38±2,77%, A2 = 11,66±2,31%, B3 = 12,23±3,33%.

Hasil analisa menunjukkan bahwa motilitas, dan viabilitas semen beku berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) sedangkan abnormalitas semen beku menunjukkan pengaruh tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Perbedaan hasil motilitas, viabilitas, dan abnormalitas semen beku dikarenakan adanya pengaruh lama durasi waktu *post thawing*.

Semakin lama durasi waktu *post thawing* menurunkan kualitas semen beku pada motilitas dan viabilitas semen beku, sedangkan abnormalitas semen beku tidak berpengaruh terhadap adanya durasi waktu *post thawing*.

Motilitas semen beku menunjukkan hasil yang baik dengan rata-rata tiap perlakuan diatas 40%, namun pada durasi waktu *post thawing* 60 menit sangat mendekati motilitas 40%. Penurunan motilitas semen beku diakibatkan karena durasi waktu *post thawing* dilakukan di suhu ruangan (32°C). suhu ruangan yang tidak sesuai dengan suhu optimal spermatozoa mengakibatkan spermatozoa mengalami *cold shock*. Sesuai pendapat Pratiwi (2007) penurunan suhu spermatozoa dari suhu kehidupan menuju suhu yang lebih rendah menyebabkan spermatozoa mengalami *cold shock* dan rusaknya dinding sitoplasma.

Pengamatan kualitas motilitas sperma banyak sperma yang tidak bergerak, berjalan mundur dan bergerak ditempat. Sesuai dengan pendapat Feradis (2010) bahwa *cold shock* menyebabkan pergerakan mundur dan melingkar apabila spermatozoa bergerak berayun atau berhenti maka sperma dianggap mati.

Hasil dari pengamatan viabilitas pada setiap perlakuan mengalami penurunan. Perlakuan durasi waktu *post thawing* 0 menit rata-rata viabilitas sebesar $70,79 \pm 12,40$, pada *post thawing* 30 menit mengalami penurunan 8,09% dan pada *post thawing* 60 menit mengalami penurunan 21,49%. Penurunan ini diduga karena spermatozoa terlalu lama pada suhu ruangan yang bukan merupakan suhu alami spermatozoa. Hal ini mengakibatkan sperma mengalami penumpukan asam laktat yang mengakibatkan kematian.

Asam laktat dihasilkan karena pergerakan spermatozoa yang terlalu lama. Spermatozoa akan mengalami kematian karena spermatozoa rentan terhadap asam. Didukung oleh pendapat Solihati (2008) asam laktat dihasilkan oleh pergerakan sperma yang berdurasi lama dan cepat. Asam laktat yang tinggi dapat mempengaruhi daya hidup spermatozoa karena spermatozoa rentan terhadap pH asam.

Hasil dari pengamatan menunjukkan rata-rata viabilitas spermatozoa perlakuan B1 = $70,79 \pm 12,40$ dan B2 = $62,72 \pm 14,58$. Hasil ini sesuai dengan pernyataan Syamlan (2021), bahwa kualitas semen beku baik pada *post thawing* dilakukan pada suhu 37°C waktu paling lama 30 menit dengan nilai rata-rata 83%. Didukung dengan pernyataan Toelihere (1993), bahwa kualitas semen beku yang baik memiliki viabilitas sebesar lebih dari 50%.

Hasil pengamatan abnormalitas semen beku menunjukkan pengaruh yang tidak nyata ($P > 0,05$). Diduga abnormalitas terjadi pada waktu pembuatan semen beku. Kejutan dingin pada semen beku menyebabkan stres pada spermatozoa. Sesuai dengan pendapat Arifiantini (2005), bahwa abnormalitas sperma disebabkan karena sperma mengalami kejutan dingin atau panas, sinar x, ketidak seimbangan nutrisi, dan endoktrin.

Pengaruh Kombinasi Perlakuan metode *thawing* dan durasi waktu *post thawing* terhadap pH semen beku sapi Limousin

Data hasil pengamatan pengaruh kombinasi perlakuan metode dan durasi waktu *post thawing* terhadap pH Semen Beku Sapi Limousin dianalisa secara diskriptif, dengan

menghitung rata-rata pH pada masing-masing kombinasi perlakuan. pH diukur dengan menggunakan kertas pH. Pengamatan dilakukan dengan cara mengoleskan semen yang telah diberi perkaluan didalam kertas pH. Pengamatan dilakukan dengan melihat hasil warna kertas pH.

Hasil test pH dari setiap perlakuan menggunakan kertas lakmus menunjukkan nilai pH sebesar 6 pada semua kombinasi perlakuan. Nilai pH yang diperoleh dapat dikategorikan normal. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Garner dan Hafez (2008) bahwa semen sapi mempunyai karakteristik yaitu, pH sekitar 6,4 - 6,8. Dengan demikian semen beku bisa digunakan untuk inseminasi buatan.

Hasil pengamatan dan evaluasi pH semen beku Limousin pada setiap kombinasi perlakuan menunjukkan bahwa, kombinasi perlakuan tidak memberikan pengaruh yang nyata ($P > 0,05$). Hal ini diduga dikarenakan pengukuran pH dilakukan didalam ruangan yang bersuhu relatif sama. Suhu ruangan yang sama menyebabkan perubahan pH pada spermatozoa yang relatif sama. Sejalan dengan pendapat Utomo (2010) kesamaan nilai pH disebabkan pengukuran pH dilakukan di suhu ruangan yang relatif sama. Akibatnya penimbunan asam laktat hasil metabolisme spermatozoa menghasilkan timbunan asam laktat yang relatif sama.

Menurut Solihati (2008) asam laktat dihasilkan oleh pergerakan sperma yang berdurasi lama dan cepat. Asam laktat yang tinggi dapat mempengaruhi daya hidup spermatozoa karena spermatozoa rentan terhadap pH asam. Hasil evaluasi dan pengamatan pH semen beku sapi Limousin pengukuran sperma pada perlakuan *post thawing* 0 menit, 30 menit, dan 60 menit menunjukkan hasil pH yang sama sehingga dapat dilihat pH semen masih berkualitas baik pada *post thawing* 0 sampai 60 menit.

Contri (2013) menyebutkan dalam penelitiannya bahwa spermatozoa pada kondisi pH rendah antara 6,0-6,5 mempunyai motilitas 53,3%- 60,7%. Pada pH tinggi antara 8,0-8,5 spermatozoa mempunyai motilitas yang rendah yaitu 33,9%-23,1%. Spermatozoa menunjukkan motilitas yang baik pada pH optimumnya yaitu pada pH 7,0-7,5 dengan motilitas 66,8%-71,1%, sehingga pH optimum semen berada pada kisaran pH netral.

DAFTAR PUSTAKA

Arifiantini, R. I, dkk. 2005. *Longivitas and recovery rate pasca thawing semen*

- beku sapi Friesian Holstein menggunakan bahan pengencer yang berbeda. Buletin Peternakan. 28 (03): 53-61
- Arifiantini, R. I., Wresdiyati, T dan Retnani, E. F. 2006. Pengujian Morfologi Spermatozoa Sapi Bali (*Bos sondaicus*) Menggunakan Pewarnaan "Williams". J. Indontrop. Anim. Agric. 31 (2) : 105 -110
- Bintara, S. 2011. Rasio X:Y dan Kualitas Sperma pada Kambing Kacang dan Peranakan Ettawa. Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. Sains Peternakan, 9 (2): 65-71
- BSN (Badan Standardisasi Nasional). 2017. Standar Nasional Indonesia (SNI) semen beku – bagian 1: sapi
- Contri, A., A. Gloria, D. Robbe, C. Valorz, L. Wegher and A. Carluccio. 2013. *Kinematic study on the effect of pH on bull sperm function*. Animal Reproduction Science 136(4): 252-259
- Engki, Z., Bayu, R., dan Teguh, S. 2012. Kualitas Spermatozoa *Post thawing* dari Semen Beku Sapi Perah. Fakultas Peternakan Universitas Jambi. Jurnal Ilmu-ilmu Peternakan Fakultas Peternakan Universitas Jambi, Jambi, 15 (2): 94-102
- Fachroerrozi, H. 2013. Pengaruh Penggunaan Metode *Thawing* yang Berbeda Terhadap Kualitas Spermatozoa Semen Sapi Perah Berpengencer Tris Sitrat Kuning Telur. Jurnal Ilmiah Universitas Batanghari Jambi, 13 (4): 118-126
- Faradina, K. Sri, S. dan Siswanto. 2014. Kualitas Semen Beku Sapi Bali dengan Penambahan Berbagai Jenis Vitamin C pada Bahan Pengencer Skim Kuning Telur. Jurnal Ilmiah peternakan Terpadu 2 (3). Fakultas Pertanian Universitas Lampung
- Feradis. 2010. Bioteknologi Reproduksi pada Ternak. Alfabeta. Bandung
- Hafez, E. S. E., Garner, D. L. 2008. Spermatozoa dan Plasma Semen. *Reproduction in Farm Animal*. Baltimore, Maryland, USA
- Ihsan, N. M. 2009. Bioteknologi Reproduksi Ternak. Universitas Brawijaya. Malang
- Muhammad, A. S., Trinil, S. dan Sri, W. 2012. Kualitas Spermatozoa *Post thawing* dari Semen Beku Sapi Perah. Jurnal Agripet 12 (2): 14 - 19
- Pratiwi W. C., dkk. 2007. Pengaruh Lama *Thawing* terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Limousin dan Sapi Brahman. Animal Production 11 (1): 48-52
- Rasul, Z., Ahmed, N., Anzar, M. 2007. *Antagonist Effect of DMSO on The Cryoprotection Ability of Glycerol During Cryopreservation of Buffalo Sperm*. Theriogenology 68 (5): 813-819
- Salim, M. A., dkk. 2012. Pengaruh Metode *Thawing* Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Bali, Sapi Madura, dan Sapi PO. Agripet 12 (02): 14 - 16
- Sholihati, N., Idi, R., Rasad, S. D., Rizal, M., dan Fitriati, M. (2008). Kualitas Spermatozoa Cauda Epididimis Sapi Peranakan Ongole (PO) dalam Pengencer Susu, Tris dan Sitrat Kuning Telur pada Penyimpanan 4-5°C. Animal Production 10 (1): 22-29
- Sigit M., Pratama J. W. A., Sari D. A. K. 2018. Pengaruh Beberapa Metode *Thawing* Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Simmental. Jurnal Ilmiah Fillia Cendekia vol. 03
- Suyadi A, Rachmawati N, Iswanto. 2012. Pengaruh α -Tocopherol yang Berbeda dalam Pengencer Dasar Tris Aminomethane Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Kambing Boer yang Disimpan pada Suhu 5°C. Jurnal Ilmiah Ilmu-ilmu Peternakan. 22 (3):1-8
- Syاملan, A., Janah, M., dkk. 2021. Perbandingan Waktu *Post Thawing Motility* (PTM) Semen beku sapi Bali pada Media Air dengan Suhu 37°C. Mandalika Veterinary Journal 1 (02): 13 – 18
- Toelihere, M.R., 1993. Inseminasi Buatan pada Ternak, Angkasa, Bandung
- Utomo, S. dan Boquifai, E. 2010. Pengaruh Temperatur dan Lama *Thawing* Terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi dalam Penyimpanan *Straw* Beku. Sains Peternakan 8 (1): 22 – 25