

**Efektifitas Metode *Thawing* Dan Durasi Waktu *Post Thawing* Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi *Friesian Holstein* (FH)****The Effectiveness Of Thawing Method And Duration Of Post Thawing Time On Frozen Semen Quality Of Holstein Friesian Cattle****Maksum. A.; Rokhana E.; Rahmawati N.,\***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 FH *post thawing* dengan metode perlakuan metode *thawing* dan durasi waktu *post thawing*. Penelitian ini dilakukan pada 15 Agustus 2022 sampai 27 Agustus 2022 bertempat di laboratorium Prodi Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Islam Kediri Kediri Provinsi Jawa Timur. Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimental dengan pola Rancangan Acak Kelompok (RAK) Faktorial yang terdiri dari 2 faktor yaitu faktor A suhu *thawing* dan Faktor B durasi waktu *post thawing* dengan 10 kali ulangan. Perlakuan 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 pH, motilitas, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan metode *Analysis of Varians* (ANOVA) untuk mengetahui pengaruh pada setiap perlakuan, kemudian dilanjutkan uji lanjut Beda Nyata Terkecil (BNT) 5% untuk mengetahui pengaruh terbaik antar kombinasi perlakuan. Hasil dari penelitian ini menunjukkan kombinasi metode *thawing* dan durasi waktu *post thawing* tidak memberikan pengaruh interaksi yang berbeda nyata ( $P>0,05$ ). Faktor A metode *thawing* juga tidak memberikan pengaruh yang berbeda nyata ( $P>0,05$ ) sedangkan durasi waktu *post thawing* memberikan pengaruh yang sangat berbeda nyata ( $P<0,01$ ). Hasil pengolahan data diperoleh rata-rata tertinggi terdapat pada perlakuan dengan durasi waktu *post thawing* 0 menit (B1) sebesar motilitas ( $56,51\pm 7,59$ )%, viabilitas ( $81,85\pm 3,19$ )%, untuk abnormalitas tertinggi terdapat pada perlakuan dengan durasi waktu *post thawing* 60 menit yaitu sebesar ( $8,35\pm 3,34$ )%. Kesimpulan dari penelitian ini metode *thawing* dan durasi waktu *post thawing* tidak memberikan pengaruh interaksi yang berbeda nyata. Metode *thawing* juga tidak memberikan pengaruh yang nyata, namun durasi waktu *post thawing* berpengaruh sangat nyata terhadap kualitas semen beku sapi FH. Metode *thawing* yang baik dilakukan pada suhu 37°C selama 15 detik dengan durasi waktu *post thawing* maksimal 30 menit. Saran pada penelitian ini adalah sebaiknya dilakukan *thawing* menggunakan air dengan suhu 37°C dengan durasi waktu *post thawing* maksimal 30 menit. Supaya diperoleh kualitas semen *post thawing* yang baik digunakan untuk Inseminasi Buatan.

Kata kunci : Sapi *Friesian Holstein* (FH), Semen Beku, *Thawing*, *Post Thawing*.**ABSTRACT**

*This study aims to determine the quality of post-thawing frozen semen of FH cattle with the thawing method and the duration of post-thawing time. This research was conducted from 15 August 2022 to 27 August 2022 at the laboratory of the Animal Husbandry Study Program, Faculty of Agriculture, Kediri Islamic University, Kediri, East Java Province. This research was conducted using an experimental method with a factorial randomized block design (RBD) pattern consisting of 2 factors, namely factor A thawing temperature and factor B duration of post thawing time with 10 replications. The treatment on factor A was thawing temperature of 15°C for 30 seconds and thawing temperature of 37°C for 15 seconds. Factor B treatment is the duration of post thawing for 0 minutes, 30 minutes and 60 minutes. The variables observed in this study were pH, motility, viability, and spermatozoa abnormalities. The data obtained were analyzed using the Analysis of Variance (ANOVA) method to determine the effect on each treatment, then continued with the 5% Least Significant Difference (LSD) test to determine the best effect between treatment combinations. The results of this study showed that the combination of the thawing method and the duration of post-thawing time did not have a significantly different interaction effect ( $P>0.05$ ). Factor A of the thawing method also did not have a significantly different effect ( $P>0.05$ ) while the duration of post-thawing*

*time had a very significantly different effect ( $P < 0.01$ ). The results of data processing obtained the highest average in the treatment with a post-thawing time duration of 0 minutes (B1) for motility ( $56.51 \pm 7.59$ ), viability ( $81.85 \pm 3.19$ ), for the highest abnormality there in the treatment with a duration of 60 minutes post thawing that is equal to ( $8.35 \pm 3.34$ ). The conclusion of this study is that the thawing method and the duration of post-thawing do not have a significantly different interaction effect. The thawing method also did not have a significant effect, but the duration of post-thawing time had a very significant effect on the quality of frozen semen of FH cattle. A good thawing method is carried out at  $37^{\circ}\text{C}$  for 15 seconds with a maximum post-thawing duration of 30 minutes. The suggestion for this research is that it is better to do thawing using water with a temperature of  $37^{\circ}\text{C}$  with a maximum post-thawing duration of 30 minutes. In order to obtain good quality post thawing semen, it is used for Artificial Insemination.*

**Keywords:** *Holstein Friesian Cattle (FH), Frozen Semen, Thawing, Post Thawing.*

## PENDAHULUAN

Peningkatan populasi sapi FH di Indonesia dapat dilakukan dengan cara program bioteknologi Inseminasi Buatan. Salah satu cara yang dilakukan untuk meningkatkan populasi dan produktivitas ternak adalah melalui penerapan bioteknologi reproduksi yaitu inseminasi buatan (IB) (Rizal dan Herdis 2008). Inseminasi Buatan (IB) adalah salah satu teknologi reproduksi yang mampu dan telah berhasil untuk meningkatkan mutu genetik ternak, sehingga dalam waktu pendek dapat menghasilkan anak dengan kualitas baik dalam jumlah yang besar.

Penerapan bioteknologi (IB) pada ternak ditentukan oleh empat faktor utama, yaitu semen beku, ternak betina sebagai akseptor IB, keterampilan tenaga pelaksana (Inseminator) dan pengetahuan zooteknis peternak (Fachroerrozi, Hoesni 2013). Webb (2004), juga menjelaskan salah satu faktor keberhasilan Inseminasi Buatan (IB) adalah kualitas semen yang digunakan. Umumnya dalam praktik Inseminasi Buatan (IB) menggunakan semen beku atau semen yang diencerkan menurut prosedur tertentu, lalu dibekukan jauh di bawah titik beku air (Hertoni *et al.*, 2007).

Permasalahan utama dari semen beku adalah rendahnya kualitas semen setelah dilakukan *thawing*. Selama proses pembekuan terjadi penurunan motilitas atau kerusakan yang disebabkan oleh proses pembekuan (*cold shock*). Kematian spermatozoa selama pembekuan berkisar antara 20-80% dengan rata-rata 50% (Hardijanto *et al.*, 2008).

Dalam proses Inseminasi Buatan (IB) proses *thawing* menjadi hal yang sangat penting. *Thawing* yang dimaksud merupakan proses pencairan kembali semen beku yang akan digunakan untuk Inseminasi Buatan (IB). Temperatur media *thawing* dan lama durasi *thawing* akan berpengaruh pada daya hidup sel sperma dan kualitas sperma.

Kesalahan dalam proses *thawing* akan menyebabkan rendahnya motilitas massa ataupun individu, rendahnya angka viabilitas dan tingginya angka abnormalitas. Seperti yang dikatakan Rodriguez *et al.*, (2005), bahwa proses *thawing* pada semen beku sapi dengan suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 60 detik menyebabkan terjadinya beberapa kerusakan pada membran spermatozoa.

Selk (2002), melaporkan bahwa untuk menghindari bahaya *cold shock* pada *straw* beku dilakukan *thawing* selama 10 hingga 60 detik menggunakan air hangat. Sayoko *et al.*, (2007) juga melaporkan lama *thawing* 30 detik memberikan hasil yang lebih baik terhadap persentase spermatozoa hidup dari pada *thawing* selama 15 detik. Menurut Pesch and Hoffmann (2007), untuk keperluan IB komersil pada sapi, sebaiknya *thawing* dilakukan pada air bersuhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 20 detik karena lebih praktis serta semen beku tidak boleh di *thawing* di bawah suhu  $15^{\circ}\text{C}$ .

Keberagaman metode *thawing* akan menghasilkan semen *post thawing* yang mempunyai kualitas yang berbeda. Keberhasilan menentukan lama waktu *thawing*, suhu media *thawing* dan jarak *post thawing* akan menghasilkan *straw* dengan kualitas yang baik dan juga tetap menjaga motilitas dan mengurangi abnormalitas pada sel spermatozoa. Hal ini tentu akan menambah presentase keberhasilan proses Inseminasi Buatan (IB) dengan bibit yang unggul sesuai dengan aslinya.

## 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 digunakan 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 FH yang diperoleh dari BBIB Singosari Malang, larutan Eosin-Negrosin 2%.

Penelitian ini dilakukan menggunakan metode eksperimen. Rancangan yang digunakan 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 2x3=6 kombinasi perlakuan .Setiap perlakuan diulangi sebanyak 10 kali sehingga diperoleh 60 unit perlakuan. Setiap perlakuan menggunakan menggunakan 1 unit staw sapi FH 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 Metode *Thawing* Dan Durasi *Post Thawing* Terhadap Motilitas, Viabilitas, Dan Abnormalitas Semen Beku Sapi FH.

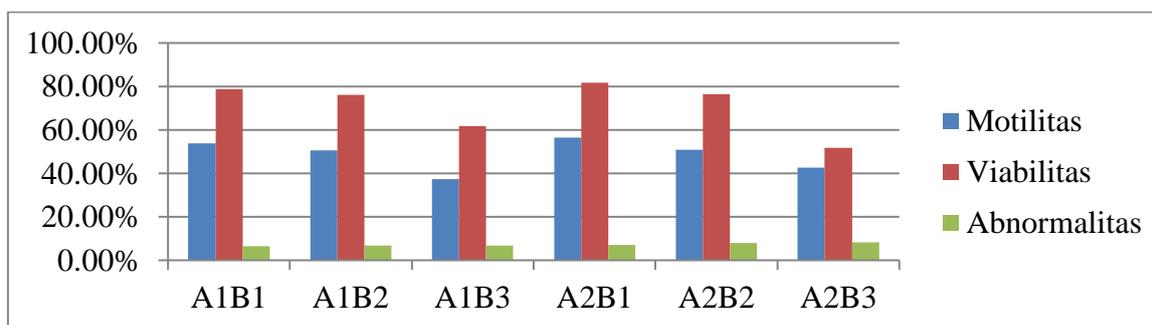
Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan didapatkan hasil dari kombinasi perlakuan metode *thawing* dan durasi waktu *post thawing* terhadap kualitas semen beku sapi FH. Hasil analisa ragam pengaruh kombinasi antara metode dan durasi waktu *post thawing* menghasilkan pengaruh interaksi yang tidak berbeda nyata ( $P>0,05$ ) terhadap motilitas, viabilitas dan abnormalitas semen beku sapi FH.

Analisis data menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh interaksi yang nyata pada metode *thawing* dan durasi *post thawing* terhadap motilitas, viabilitas dan abnormalitas. Hal ini diduga karena pada faktor A (metode *thawing*) dengan suhu waktu 15°C dengan lama 30 detk ( A1) dan *thawing* dengan suhu 37°C dengan waktu 15 detik (A2) menghasilkan rata-rata yang hampir sama diantara keduanya, sehingga pada faktor perlakuan A (metode *thawing*) tidak mempengaruhi hasil pada faktor B (durasi waktu *post thawing*). Rata-rata motilitas, viabilitas dan abnormalitas semen beku sapi FH terdapat pada tabel berikut

Tabel 1. Rata-rata motilitas, viabilitas dan abnormalitas semen beku sapi FH pada setiap kombinasi perlakuan

Variabel	Perlakuan					
	A1B1	A1B2	A1B3	A2B1	A2B2	A2B3
Motilitas (%)	53,89±7,54	50,44±8,75	37,29±5,21	56,51±7,59	50,91±7,65	42,70±6,01
Viabilitas (%)	78,88±12,12	76,05±11,38	61,64±11,46	81,85±3,19	76,29±9,54	51,78±7,56
Abnormalitas (%)	6,43±1,88	6,69±2,66	6,89±2,10	7,04±1,69	8,06±3,47	8,35±3,34

Keterangan: Kombinasi perlakuan tidak berpengaruh nyata ( $P>0,05$ ) terhadap motilitas, viabilitas, dan abnormalitas semen beku sapi FH.



Gambar 1. Grafik rata-rata motilitas, abnormalitas dan viabilitas semen beku sapi FH pada setiap kombinasi perlakuan

Berdasarkan Tabel 1. Diperoleh nilai rata-rata semen beku sapi FH tertinggi pada setiap variabel yaitu motilitas perlakuan A2B1 =  $(56,51 \pm 7,59 \%)$ , viabilitas perlakuan A2B1 =  $(81,85 \pm 3,19\%)$ , abnormalitas perlakuan A2B3 =  $(8,35 \pm 3,34\%)$ . Nilai rata-rata terkecil pada perlakuan setiap variabel yaitu motilitas perlakuan A1B3 =  $(37,29 \pm 5,21\%)$ , viabilitas perlakuan A2B3 =  $(51,78 \pm 7,56\%)$ , abnormalitas perlakuan A1B1 =  $(6,43 \pm 1,88\%)$ .

Berdasarkan hasil penelitian pada pengamatan motilitas spermatozoa masih diatas rata-rata standart motilitas semen beku pada perlakuan A1B1, A1B2, A2B1, A2B2, dan A2B3. Namun pada perlakuan A1B3 menunjukkan nilai motilitas yang sangat rendah yaitu sebesar 37,29%. Angka tersebut dibawah standart semen beku yang ditetapkan BSN bahwa semen beku yang digunakan pada inseminasi buatan minimal mempunyai motilitas sebesar 40% (BSN, 2017).

Durasi waktu *post thawing* pada kombinasi perlakuan pada penelitian mengakibatkan penurunan terhadap viabilitas spermatozoa. Penurunan terjadi karena persediaan cadangan nutrisi spermatozoa yang terdapat pada pengencer berkurang seiring dengan lamanya durasi waktu *post thawing*. Cadangan nutrisi yang berasal dari pengencer digunakan untuk bergerak dan bertahan hidup. (Kusumawati, 2018). Cadangan nutrisi yang berkurang menyebabkan bertambahnya spermatozoa yang mati.

Handayani *et al.*, (2021) menyebutkan nilai persentase viabilitas pada semen beku yang sudah bersertifikasi SNI sebesar  $82,65 \pm 4,7\%$ . Presentase viabilitas spermatozoa sapi FH pada perlakuan durasi *post thawing* B1 (0 menit) dan B2 (30 menit) masih layak digunakan untuk Inseminasi Buatan dikarenakan rata-rata presentasenya diatas 50%. Viabilitas normal pada spermatozoa yang digunakan untuk inseminasi buatan membutuhkan 50 %

sepermatozoa yang motil dan hidup (Hidayatin, 2002). Perlakuan B3 jumlah presentase viabilitas spermatozoa tidak layak untuk Inseminasi Buatan karena dibawah 50 %.

Abnormalitas yang banyak ditemukan pada penelitian ini termasuk abnormalitas tersier, yaitu kepala terpisah dengan ekor, ekor patah dan melengkung. Diduga abnormalitas terjadi akibat proses pembuatan preparat ulas pada saat penilitan berupa ada tekanan yang berlebihan pada saat meratakan sampel sehingga mengakibatkan kerusakan pada sel spermatozoa.

Angka abnormalitas pada penelitian ini antara (6,43 % - 8,35%) dari hasil ini semen beku sapi FH pada penelitian ini tergolong semen beku yang normal. Hasil ini sesuai dengan penelitian terdahulu oleh Purwantara *et al.*, (2010), yang melaporkan bahwa dari tiga pusat inseminasi buatan yang ada diindonesia presentase kelainan morfologi spermatozoa tergolong masih normal yaitu berada pada kisaran 1,00% sampai 8,40%.

Yulnawati *et al.*, (2009), melaporkan abnormalitas tersier terjadi kemungkinan karena pembuatan preparat ulas sehingga menyebabkan kepala atau ekor spermatozoa putus. Hal tersebut juga didukung oleh pendapat Suyadi *et al.*, (2012), yang menyatakan bahwa peningkatan angka abnormalitas disebabkan pada saat pembuatan preparat sebelum dilakukan pengamatan dan juga disebabkan *peroksidasi lipid*.

#### Pengaruh Metode *Thawing* Terhadap Motilitas, Viabilitas Dan Abnormalitas Semen Beku Sapi FH.

Metode *thawing* yang digunakan pada penelitian ini terdapat dua perlakuan yaitu *thawing* dengan suhu 15°C dengan waktu 30 detik dan *thawing* dengan suhu 37°C dengan waktu 15 detik. *Thawing* dilakukan dengan tujuan peningkatan suhu secara gradual guna

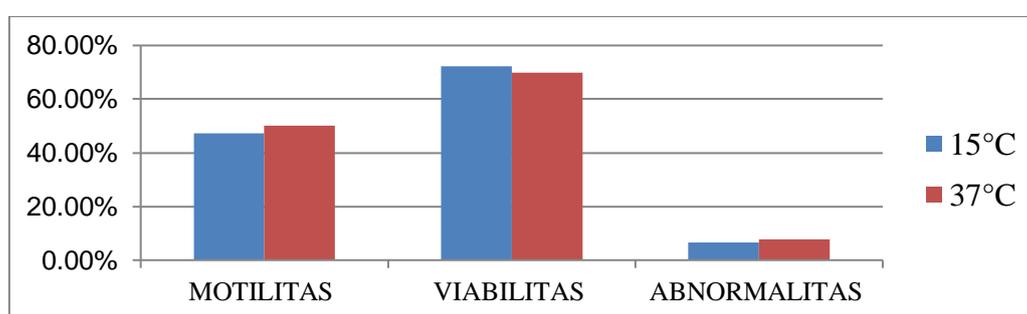
pencairan semen beku untuk digunakan untuk IB. Hasil analisis ragam menggunakan anova menunjukkan bahwa metode *thawing* memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata ( $P>0,05$ ) terhadap motilitas, viabilitas dan abnormalitas semen beku sapi FH. Rata-

rata presentase motilitas, viabilitas dan abnormalitas pada metode *thawing* dengan suhu 15°C dengan waktu 30 detik (A1) dan dengan suhu 37°C dengan waktu 15 detik (A2) dapat dilihat dibawah ini.

Tabel 2. Rata-rata presentase motilitas, viabilitas dan abnormalitas semen beku sapi FH pada perlakuan metode *thawing*.

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 : Metode *thawing* tidak berpengaruh nyata ( $P>0,05$ ) terhadap motilitas, viabilitas, dan abnormalitas semen beku sapi FH.



Gambar 2. Grafik rata-rata presentase motilitas, viabilitas dan abnormalitas semen beku sapi FH pada perlakuan metode *thawing*

Berdasarkan tabel diatas diperoleh rata-rata motilitas spermatozoa A1 = (47,21±10,13%), A2 = (50,04±8,97%). Rata-rata viabilitas spermatozoa A1 = (72,19±13,62%), A2 = (69,98 ±15,02%) dan rata-rata abnormalitas A1 = (6,67±2,17%), A2 = (7,82±7,81%). Hasil pengamatan dan analisis pada berbagai metode *thawing* yang dilakukan tidak memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap motilitas, viabilitas dan abnormalitas semen beku sapi FH.

Metode *thawing* pada perlakuan A1 dan A2 memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata diduga karena kesamaan hasil diantara kombinasi suhu dan lama *thawing* yang dilakukan. Perlakuan A1 menggunakan suhu yang optimal untuk melakukan *thawing* namun waktu yang singkat membuat spermatozoa belum kembali normal seperti asalnya. Durasi *thawing* yang terlalu singkat akan menyebabkan kristal-kristal es yang terdapat di dalam semen beku belum mencair secara sempurna sehingga menghambat pergerakan sel spermatozoa secara aktif (Fauzan, 2014).

Perlakuan A2 metode *thawing* dengan suhu 15°C merupakan suhu yang terlalu rendah untuk melakukan *thawing* namun durasi waktu *thawing* selama 30 detik

memberikan pengaruh yang baik terhadap keberlangsungan hidup spermatozoa. Hal ini sesuai dengan pendapat Sayoko *et al.*, (2007), bahwa lama *thawing* 30 detik menghasilkan presentase spermatozoa hidup yang lebih baik dari pada *thawing* selama 15 detik.

Suhu ruangan juga diduga penyebab dari terjadinya perbedaan yang tidak nyata pada metode *thawing* dikarenakan saat semen beku mulai dikeluarkan dari container sudah mengalami kenaikan suhu dari suhu -196°C menuju suhu ruangan. Utomo (2010), berpendapat bahwa *thawing* alami terjadi saat *straw* dikeluarkan dari container.

Motilitas spermatozoa pada perlakuan A1 lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan A2 yaitu A1 = (47,21±10,13%) dan A2 = (50,04±8,97%). Hal ini sesuai dengan pendapat Ansary *et al.*, (2010), bahwa suhu *thawing* yang lebih rendah akan menghasilkan angka motilitas yang lebih rendah. Motilitas yang lebih rendah pada perlakuan A1 diduga karena *thawing* pada suhu yang rendah kristal es belum menghilang secara sempurna sehingga menghambat pergerakan dari spermatozoa.

Pengamatan viabilitas pada penelitian diantara perlakuan A1 dan A2 diperoleh perbedaan yang kecil yaitu sebesar 2,52%.

Hal ini sama dengan hasil penelitian Adyani *et al.*, (2018), dan Muhammad Ade (2012), yang melaporkan *thawing* dengan menggunakan air bersuhu 15°C selama 30 detik menunjukan viabilitas dengan jumlah rerata 60,10 % dan *thawing* dengan air 37°C selama 15 detik menghasilkan jumlah rata-rata viabilitas sebesar 63,29%. Dari kedua hasil tersebut tidak memberikan perbedaan yang signifikan.

Pengamatan viabilitas spermatozoa dilakukan secara mikroskopis dengan cara mencampurkan spermatozoa dengan larutan eosin dengan perbandingan 1 : 1 pada preparat ulas setelah itu diratakan. Spermatozoa yang hidup ditandai dengan tidak menyerap warna eosin, sedangkan spermatozoa yang mati akan menyerap warna eosin (Rizal, 2006).

Presentase abnormalitas pada tabel 5 diatas menunjukkan bahwa *thawing* pada suhu 37°C sebesar 7,81%, jumlah spermatozoa abnormal memiliki kecenderungan lebih tinggi dibandingkan *thawing* pada suhu 15°C sebesar 6,69%, meskipun secara statistik tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Hasil ini menunjukan bahwa metode *thawing* dengan suhu 15°C menghasilkan kualitas semen beku lebih baik dilihat dari variabel abnormalitas spermatozoa.

Abnormalitas terjadi diduga karena adanya kerusakan membrane sel spermatozoa yang menyebabkan membran sel tidak stabil akibat pengolahan semen mulai dari penampungan, pengenceran, penyimpanan dan penanganan setelah penyimpanan. Hal ini sesuai dengan yang dilaporkan Herdis (2005), dalam penelitiannya, bahwa proses pengolahan dan penyimpanan akan menyebabkan perubahan fisik pada spermatozoa.

### Pengaruh Durasi Waktu *Post Thawing* Terhadap Motilitas, Viabilitas Dan Abnormalitas Semen Beku Sapi FH.

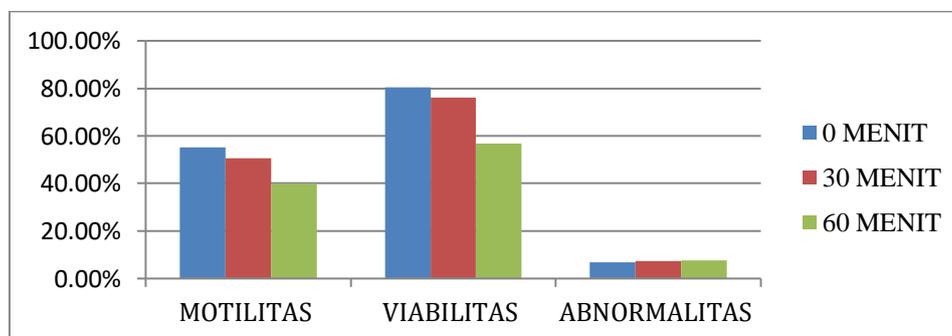
Durasi waktu *post thawing* merupakan jarak semen beku yang telah di *thawing* sampai waktu dimana semen diinseminasikan kepada ternak. Hasil analisis ragam menggunakan Anova menunjukan bahwa durasi waktu *post thawing* memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap motilitas, viabilitas, dan abnormalitas semen beku sapi FH.

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan rata-rata motilitas, viabilitas dan abnormalitas pada perlakuan durasi waktu *post thawing* selama 0 menit, 30 menit, dan 60 menit dapat dilihat pada tabel dibawah ini

Tabel 3. Rata-rata presentase motilitas, viabilitas dan abnormalitas semen beku sapi FH pada perlakuan metode *thawing*.

Perlakuan	Motilitas (%)	Viabilitas (%)	Abnormalitas (%)
B1	55,20±7,48 <sup>b</sup>	80,37±8,76 <sup>b</sup>	6,73±1,77
B2	50,68±8,01 <sup>b</sup>	76,17±10,22 <sup>b</sup>	7,37±3,09
B3	39,99±6,14 <sup>a</sup>	56,71±10,72 <sup>a</sup>	7,62±2,82

Keterangan : Durasi waktu *post thawing* berpengaruh sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap motilitas dan viabilitas semen beku sapi FH. Notasi yang berbeda pada baris yang berbeda menunjukan perbedaan yang sangat nyata ( $P < 0,01$ )



Gambar 3. Grafik rata-rata presentase motilitas, viabilitas dan abnormalitas semen beku sapi FH pada perlakuan durasi waktu *post thawing*.

Berdasarkan tabel diatas hasil pengamatan kualitas semen beku sapi FH *post thawing* menunjukan besaran angka tertinggi pada motilitas dan viabilitas terdapat pada perlakuan dengan durasi waktu *post thawing* 0 menit (B1) sebesar (55,20±7,48%) spermatozoa motil dan (80,37±8,76%) spermatozoa hidup sedangkan untuk abnormalitas tertinggi terdapat pada perlakuan dengan durasi waktu *post thawing* 60 menit (B3) sebesar (7,62±2,82%).

Hasil uji lanjut beda nyata terkecil (BNT) menunjukan notasi yang berbeda pada perlakuan B2 dan B3 untuk motilitas dan Viabilitas. Hal ini menunjukan bahwa penurunan terbesar kualitas semen beku sapi FH *post thawing* terdapat pada durasi waktu *post thawing* 30 menit sampai 60 menit yaitu sebesar 10,68%. Durasi waktu *post thawing* 0 menit dan 30 menit kualitas semen beku sapi FH mengalami penurunan pada motilitas dan viabilitas sebesar 4,63%. Hal ini menunjukan pada durasi waktu *post thawing* 0 menit sampai 30 menit spermatozoa mengalami penurunan kualitas yang tidak terlalu besar dengan ditandai huruf yang sama pada uji BNT.

Durasi waktu *post thawing* dalam penelitian ini menunjukan angka yang paling baik terdapat pada durasi waktu *post thawing* 0 menit. Hal ini sesuai dengan laporan Irsan (2015), dalam penelitiannya yang mengatakan *thawing* pada suhu 37°C berdurasi waktu 30 detik dengan penyimpanan setelah *thawing* 0 menit belum menyebabkan terjadinya tekanan osmotik secara ekstrim terhadap membran spermatozoa, sehingga permeabilitas membran masih utuh dan tidak terganggu, Dengan ini fluiditas dan keseimbangan homeostatis membransel masih dipastikan aman dikarenakan pertukaran senyawa-senyawa berlangsung normal.

Durasi waktu *post thawing* memberikan efek yang signifikan terhadap kualitas semen beku. Hal ini diduga durasi waktu *post thawing* yang semakin lama menyebabkan spermatozoa semakin banyak kehilangan energi untuk daya gerak dan bertahan hidup. Hal ini sesuai dengan pendapat Aprilina (2014), bahwa spermatozoa dengan waktu *post thawing* yang cukup lama akan menyebabkan aktivitas metabolisme meningkat dan berlangsung secara masal sehingga terjadi peningkatan produksi asam laktat yang beracun yang berakibat pada kerusakan spermatozoa.

Penyebab penurunan kualitas semen adalah terjadinya peroksidasi lipid. Proses peroksidasi lipid terjadi pada saat proses

*thawing* dan *post thawing*, sehingga proses *thawing* dan *post thawing* yang terlalu lama akan menyebabkan peroksidasi lipid yang semakin banyak. Proses peroksidasi lipid ini akan mengubah struktur spermatozoa terutama pada bagian membran dan akrosom sehingga akan kehilangan motilitas (Aprilina, 2014).

Durasi waktu *post thawing* juga menyebabkan penurunan terhadap presentase viabilitas semen beku sapi FH. Lama durasi waktu *post thawing* pada perlakuan B diduga menimbulkan efek kerusakan pada membran spermatozoa sehingga mengakibatkan spermatozoa akan mati. Persentase hidup spermatozoa bergantung pada keutuhan membran plasma sel spermatozoa. Kerusakan membran plasma sel spermatozoa akan menyebabkan terganggunya proses metabolisme intraseluler, sehingga berakibat pada kematian spermatozoa (Sugiarto *et al.*, 2014).

Abnormalitas spermatozoa pada durasi waktu *post thawing* tidak memberikan hasil yang berbeda nyata ( $P > 0,05$ ) namun terdapat peningkatan jumlah spermatozoa abnormal mulai dari perlakuan B1 sampai B3. Tabel 3 menunjukan adanya peningkatan abnormalitas yang tidak signifikan secara berturut-turut mulai B1= (6,73±1,77%), B2 = (7,37±3,09%), B3 = (7,62±2,82%). Hal ini diduga karena lama durasi *post thawing* pada perlakuan B2 dan B3 mengakibatkan spermatozoa mengalami proses metabolic secara terus-menerus. Proses metabolic akan menyebabkan ketidak seimbangan tekanan osmotik yang dapat mempengaruhi perubahan fisik pada spermatozoa (Manehat, 2021).

#### Hasil Pengukuran pH Semen Beku Sapi FH

Pengukuran pH pada penelitian dilakukan dengan cara mengambil setetes spermatozoa dari *straw* yang telah di *thawing* selanjutnya dioleskan kepada alat ukur bernama kertas pH meter dan didiamkan beberapa saat. setelah itu dilakukan pengamatan dengan cara mencocokkan warna kertas pH meter yang telah dikasih spermatozoa dengan score pH didalam wadah pH meter. Prosedur Pengukuran pada penelitian yang telah dilakukan sesuai dengan Ismaya (2014), bahwa keasaman semen dapat diketahui dengan menggunakan pH meter atau dengan kertas lakmus.

Berdasarkan pengukuran dan pengamatan pada penelitian pada setiap perlakuan dan ulangan menunjukan hasil rata-rata pH pada semen sapi FH diperoleh angka 6. Hal tersebut sesuai dengan pendapat

Garner dan Hafez (2008), bahwa semen sapi FH mempunyai Karakteristik pH sekitar 6,4-6,8. Nilai pH semen beku sapi FH tersebut bisa digunakan untuk inseminasi buatan.

Berdasarkan evaluasi dan pengamatan pada pH semen beku sapi FH pada setiap kombinasi perlakuan, bahwa perlakuan *thawing* tidak memberikan pengaruh yang nyata ( $P>0,05$ ). Hal ini diduga pengukuran pH dilakukan pada ruangan yang sama dengan temperatur suhu yang relatif sama sehingga asam laktat dari hasil metabolisme relatif sama. Hal ini sejalan dengan laporan Utomo (2010), pada penelitiannya bahwa evaluasi semen pada suhu ruang yang relatif sama mengakibatkan penimbunan asam laktat hasil metabolisme spermatozoa secara anaerob akan menghasilkan timbunan asam laktat yang relatif sama antar perlakuan.

Variasi nilai pH dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain adanya aktivitas spermatozoa dalam menguraikan fruktosa sehingga pH menjadi turun, kontaminasi dengan mikroorganisme sehingga pH naik (Siti Aisyah, 2017). pH mempunyai dampak yang penting terhadap fertilitas spermatozoa, dimana spermatozoa mempunyai tingkat toleransi keasaman yang mampu digunakan sebagai standar lingkungan yang optimal bagi hidup spermatozoa (Nirwana dan Suparman, 2017). Sel spermatozoa mempunyai pH optimum untuk dapat hidup dengan baik.

Contri *et al.*, (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.

### KESIMPULAN

Metode *thawing* memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata terhadap kualitas semen beku sapi FH sedangkan untuk durasi waktu *post thawing* memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap kualitas semen beku sapi FH namun untuk keduanya tidak memberikan pengaruh interaksi. Durasi waktu *post thawing* tertinggi dijumpai pada perlakuan B1 (0 menit) yaitu motilitas (%) =  $5,20 \pm 7,48$ , viabilitas (%) =  $80,37 \pm 8,76$ , dan abnormalitas (%) =  $6,73 \pm 1,77$ . Sebaiknya dilakukan *thawing* menggunakan air dengan suhu 37°C dengan durasi waktu *post thawing*

maksimal 30 menit. Supaya diperoleh kualitas semen *post thawing* yang layak digunakan untuk Inseminasi Buatan

### DAFTAR PUSTAKA

- Adnyani, N. L. A., N. L. G. Sumardani, and N. P. Sarini. 2018. Pengaruh Lama Thawing Pada Uji Kualitas Semen Beku Sapi Bali Produksi UPT BIBD Baturiti Sebelum Didistribusikan. *Peternakan tropika* 6: 626-636. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/tropika/article/view/42191>
- Afiati, F., Yulnawati, M. Riyadi, R. I. Arifiantini. 2015. Abnormalitas spermatozoa domba dengan frekuensi penampungan berbeda. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*. 1(4): 930-934.
- Aisah, S. Isnaini, N. wahyuningsih, S 2017. Kualitas Semen Segar Dan *Recovery Rate* Sapi Bali Pada Musim Yang Berbeda. *Jurnal Ilmu Peternakan* 27 (1): 63-79 Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Jl. Veteran Malang 65145 Jawa Timur. ISSN: 0852-3681
- Al-Makhzoomi, A., N. Lundeheim, M. Haard, and H. Rodriguez-Martinez. 2008. *Sperm Morphology and Fertility of Progeny-Tested AI dairy bulls in Sweden*. *Theriogenology*, 70: 682-691.
- Andarusworo. S. 2014. *Agribisnis Ternak Perah*. Penerbit jengjala Pustaka Utama. Surabaya ISBN : 978-979-3613-68-0.
- Andarusworo. S. 2014. *Agribisnis Ternak Perah*. Penerbit jengjala Pustaka Utama. Surabaya ISBN : 978-979-3613-68-0
- Ansary, M. S., A. Bushra, Rakha and S. Akher. 2010. *Effect of Straw Size and Thawing Time on Quality of Cryopreserved Buffalo (Bubalus bubalis) Semen*. *Journal Reproductive Biology*. 11(1): 49-54.
- Aprilina, N., S. Suharyati dan P. E. Santosa. 2014. Pengaruh suhu dan lama thawing di dataran rendah terhadap kualitas semen beku sapi Simmental. *Skripsi*. Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
- Atabany, A., Purwanto, B. P., Toharmat, T., & Anggraeni, A. 2011. Hubungan Masa Kosong dengan Produktivitas pada Sapi Perah Friesian Holstein di Baturraden, Indonesia. *Media Peternakan*, 34(2), 77-82. <https://doi.org/10.5398/medpet.2011.3>

- 4.2.77.
- BSN (Badan Standarisasi Nasional). 2017. Standar Nasional Indonesia (SNI) semen beku – bagian 1: sapi.
- BSN (Badan Standarisasi Nasional). 2008. Semen Beku-Bagian 1: Sapi (SNI 4869. 1:2008). Jakarta.
- Centola, G. M. 2018. *Semen Analisis*. In: Skinner, M. K (ed). *Encyclopedia of Reproduction*. Publisher Elsevier Science Publishing Co Inc, USA.
- 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.
- Fazrien, W. A., Herwijanti, E., & Isnaini, N. (2020). Pengaruh variasi individu terhadap kualitas semen segar dan beku pejantan unggul Sapi Bali. *Sains Peternakan*, 18(1), 60. <https://doi.org/10.20961/sainspet.v18i1.37986>
- Fauzan, M. Hartono, M. Santosa, P. E. 2014. Pengaruh Suhu Dan Lama *Thawing* Di Dataran Rendah Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Brahman. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*. e- ISSN : 2614-0497. <http://jurnal.fp.unila.ac.id/index.php/JIP/T/index>
- Feradis. 2010. *Bioteknologi Reproduksi Pada Ternak*. Alfabeta. Bandung.
- Fitriani, K, Eriani, dan W. Sari. 2010. *The Effect of Cigarettes smoke Exposed Causes Fertiliti of Male Mice (Mus musculus)*. *Jurnal Natural*. 10.(2): 12-17.
- Garner, D. L., Hafez, E. S. E. 2008. *Spermatozoa and Plasma Semen. Reproduction in Farm Animal*. Baltimore, Maryland, USA
- Hafez, ESE. 2000. *Anatomy of female reproduction*. Ed pp. 29-55.
- Handayani E, Supriatna I, Tumbelaka LI, Kaiin EM. 2021. Analisis Komparatif Kualitas Semen Beku yang Telah dan Belum Bersertifikasi Standar Nasional Indonesia. *J Vet*. 22: 207-15.
- Herdis. 2005. *Bioteknologi Reproduksi pada Ternak*. Penerbit Alfabeta, Bandung.
- Hidayatin, D. 2002. Kaji Banding Kualitas Semen Beku Produk BIBLembang dan Singosari pada Setiap Jalur Distribusi Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor.
- Hoesni, F. 2015. Pengaruh keberhasilan inseminasi buatan (IB) antara sapi bali dara dengan sapi bali yang pernah beranak di Kecamatan Pemayang Kabupaten Batanghari. *Jurnal Ilmiah Universitas Batanghari Jambi*. 15(4) : 20-27.
- Husin N, Suteky T, Kususiyah. 2007. Uji Kualitas Semen Kambing Nubian Dan Peranakannya (Kambing Nubian X PE) Serta Kambing Boer Berdasarkan Lama Penyimpanan. *Jurnal Sains Peternakan Indonesia*. 2(2):57–61
- Irsan. 2015. Pengaruh lama *thawing* dan lama penyimpanan setelah *thawing* terhadap kualitas semen beku sapi. Skripsi. Sarjana Peternakan, Jurusan Produksi Ternak Fakultas Peternakan, Universitas Hasanudin, Makasar
- Ismaya. 2014. *Bioteknologi Inseminasi Buatan Pada Sapi Dan Kerbau*. Yogyakarta. Gadjah Mada University Press. ISBN: 979-420- 848-5.
- Kusumawati, E. D. Woli, S. L. Krisnaningsih, A. T. N. Susanto, W. E. Rahadi, S. Susilawati, T. 2018. Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Ayam Kampung pada Suhu 5°C Menggunakan Pengencer dan Lama Simpan yang Berbeda. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan Tropis*, 5(3):102-105. e-ISSN: 2406-9337.
- Kusumawati, E. D., Krisnaningsih, A. T. N. dan Romadlon R. R. 2016. Kualitas Spermatozoa Semen Beku Sapi Simental dengan Suhu dan Lama *Thawing* yang Berbeda. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*. 26 (3): 38 - 4
- Kusumawati, E. D. 2015. *Sexing Spermatozoa Kambing*. Media Nusa Creative Malang. ISBN: 978-602-0839-91-2
- Manehat, F. D. Dethan, A.A. Tahuk, P.K. 2021. Motilitas, Viabilitas, Abnormalitas Spermatozoa Dan pH Semen Sapi Bali Dalam Pengencer Sari Air Tebu-Kuning Telur Yang Disimpan Dalam Waktu Yang Berdeda. *Journal Of Tropic Animal Science And Technology* : 3 (2) : 76-90. Program Studi Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Timor. E-ISSN : 2685-452X
- Makin, M., D. Suharwanto, 2012. Performa sifat-sifat produksi susu dan reproduksi sapi perah Fries Holland di Jawa Barat. *J. Ilmu Ternak*, 12 (2): 39-44.
- O’Connel M, McClure N, Lewis S. 2002. *The effect of cryopreservation on sperm*

- morphology, motility and mitochondrial function. Hum Reprod* 17(3): 704-709
- Pesch, S. & Hoffman, B. 2007. *Cryopreservation of Spermatozoa in Veterinary Medicine. Journal of Reproduction Endocrinol*, 3(2), 22-48.
- PSPK. 2011. Rilis Akhir Hasil Sensus Ternak Tahun 2011. Kementan – BPS, Jakarta.
- Purwantara B, Arifiantini RI, Riyadhi M. 2010. *Sperm morphological assessments of FH bull semen collected from three Artificial Insemination Centers in Indonesia. Journal of Indonesian Tropical. Animal. Agriculture*. 35: 90-4.
- Putri, R. D. A. Gunawan, M. Kaiin, E. M. 2015. Uji kualitas sperma sexing sapi *Friesian Holstein* (FH) pasca *thawing*. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*. 1 (8): 2057-2061. ISSN: 2407-8050.
- Rizal M. 2006. Pengaruh penambahan laktosa di dalam pengencer Tris terhadap kualitas semen cair domba Garut. *Jurnal Pengembangan Peternakan Tropis* 31: 224- 231.
- Riyadhi, M. 2010. Jenis dan Tingkat Abnormalitas Primer pada Spermatozoa Sapi Pejantan di Beberapa Balai Inseminasi Buatan di Indonesia. Tesis. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Rizal dan Herdis. 2008. Penerapan Teknologi Inseminasi Buatan Untuk Pelestarian Sumber Daya Ternak Kerbau Belang. Disertasi. Fakultas pascasarjana institut pertanian bogor. Bogor.
- Rodriguez, F. A – Almeida, M., Cuadras, A., Anchondo, S., Romo – Garcia, B. E., Sanchez, J. A., Jimenez, A. D., & Alarcon - Rojo. (2005). *Heparin Level Effect on Sperm Capacitation of Fresh an Frozen - Thawed Bovine Semen. Proceedings Vol. 56 . Western Section. American Society of Animal Science. Mexico City*.
- Salim, M.A., Susilawati, T. dan Wahyuningsih, S. (2012) Pengaruh Metode Thawing terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Bali, Sapi Madura dan Sapi PO. *Agripet*. 12: 14-19.
- Sayoko, Y. M Hartono, dan P. E Silitonga. 2007. Factor-faktor yang mempengaruhi Persentase Spermatozoa Hidup Semen Beku Sapi pad Berbagai Inseminator di Lampung Tengah. Kumpulan Abstrak Skripsi Jurusan Produksi Ternak. Fakultas Pertanian. Universitas Lampung
- Selk G. 2002. *Artificial Insemination for Beef Cattle*. <http://www.osuextra.com>. (12 Januari 2006)
- Sholihati, N., Idi, R., Rasad, S. D., Rizal, M., & Fitriati, M. (2008). Kualitas spermatozoa cauda epididimis sapi peranakan ongole (PO) dalam pengencer susu, tris dan sitrat kuning telur pada penyimpanan 4-50C. *Animal Production*, 10(1), 22–29
- Sudono, A., F. Rosdiana dan S. Budi 2003. *Beternak Sapi Perah*. PT. Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Sukmawati, E., R.I. Arifiantini dan B. Purwantara. 2014. Daya Tahan Spermatozoa Terhadap Proses Pembekuan Pada Berbagai Jenis Pejantan Unggul. Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor. *JITV*, 19(3):168-175.
- Sugiarto, N., T. Susilawati, & S. Wahjuningsih. 2014. Kualitas semen cair sapi limousin selama pendinginan menggunakan pengencer CEP-2 dengan penambahan berbagai konsentrasi sari kedelai. *Jurnal Ternak Tropika* 15:51-57.
- Sunami, S., Isnaini, N., & Wahjuningsih, S. (2017). Kualitas Semen Segar Dan Recovery Rate (Rr) Sapi Limousin Pada Musim Yang Berbeda. *TERNAK TROPIKA Journal of Tropical Animal Production*, 18(1), 36–50. <https://doi.org/10.21776/ub.jtapro.2017.018.01.6>
- Susilawati., T. 2011. *Spermatozoatology*. Penerbit Universitas Brawijaya Press. Malang. ISBN: 978-602-8960-04-5.
- Susulawati, T. 2014. Sexing spermatozoa (Hasil penelitian laboratorium dan aplikasi pada sapi dan kambing). UB Press; universitas brawijaya. ISBN 978-602-203-711-8.
- Suyadi., A. Rachmawati, N. Iswanto. 2012. Pengaruh  $\alpha$ -Tocopherol yang Berbeda dalam Pengencer Dasar Tris Aminomethanekuning Telur Terhadap Kualitas Semen Kambing Boer yang Disimpan pada Suhu 50C. *Jurnal Ilmiah Ilmu-ilmu Peternakan*. 22 (3): 1- 8.
- 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
- Yulnawati., Herdis, H. Maheswari, A. Boediono dan M. Rizal. 2009. Potensi Reproduksi dan Upaya

- Pengembangbiakan Kerbau Belang Tana Toraja. Seminar dan Lokakarya Nasional Kerbau.
- Beku Sapi Simmental. Jurnal Ilmiah Fillia Cendekia vol. 03
- Suyadi A, Rachmawati N, Iswanto. 2012. Pengaruh  $\alpha$ -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.
- Yulnawati., Herdis, H. Maheswari, A. Boediono dan M. Rizal. 2009. Potensi

Reproduksi dan Upaya Pengembangbiakan Kerbau Belang Tana Toraja. Seminar dan Lokakarya Nasional Kerbau.