



Pengaruh Suhu dan Lama Thawing terhadap Viabilitas Sperma Sapi Madura

M. Jauzi*, Retno Susilowati, Bayyinatul Muchtaromah

Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, Indonesia

*e-mail korespondensi: jauzi.pamex@gmail.com

Abstract. *The purpose of this study was to determine the optimal temperature and duration of frozen semen thawing of Madura cattle for use in Artificial Insemination. The research design used factorial completely randomized design (2 factors) with 3 replications. The first factor was thawing temperature (34°C, 37°C and 40°C) and the second factor was thawing time (30, 35 and 40 seconds). The data obtained were tested using the Analysis of variance factorial pattern α 5%, if there was a significant difference then further tested using the Honestly Real Difference Test α 5%. The results showed that the temperature and duration of thawing had an effect on the viability of spermatozoa in Madura cattle. Thawing temperature at 37°C and thawing time of 30 seconds resulted in optimal spermatozoa quality.*

Keyword: *temperature and duration of thawing; spermatozoa viability; Madura cattle*

Abstrak. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui suhu dan lama *thawing* semen beku sapi Madura yang optimal untuk digunakan dalam Inseminasi Buatan. Rancangan penelitian menggunakan Rancangan acak lengkap pola faktorial (2 faktor) dengan 3 ulangan. Faktor yang pertama yaitu suhu *thawing* (34°C, 37°C dan 40°C) dan faktor yang kedua yaitu lama *thawing* (30, 35 dan 40 detik). Data yang diperoleh diuji menggunakan Analisis of varian pola faktorial α 5%, apabila terdapat perbedaan yang signifikan kemudian diuji lanjut menggunakan Uji Beda Nyata Jujur α 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa suhu dan lama *thawing* berpengaruh terhadap viabilitas spermatozoa sapi Madura. Suhu *thawing* 37°C dan lama *thawing* 30 detik menghasilkan kualitas spermatozoa yang optimal.

Kata Kunci: suhu dan lama *thawing*; viabilitas spermatozoa; sapi madura

PENDAHULUAN

Inseminasi Buatan (IB) adalah proses perkawinan yang dilakukan dengan campur tangan manusia, yaitu mempertemukan sperma dan sel telur agar dapat terjadi proses pembuahan (fertilisasi). Teknologi IB dilakukan dengan maksud agar diperoleh efisiensi dan efektifitas dalam penggunaan pejantan terpilih, menghindari terjadinya penyebaran penyakit melalui sarana reproduksi, atau untuk mengatasi bila terjadi kendala dalam proses perkawinan alam antara jantan dan betina. [1]

Melalui kawin alam seekor ternak atau hewan biasanya hanya mampu mengawini beberapa puluh ekor betina, sementara teknologi IB memungkinkan seekor pejantan mengawini ratusan ribu ekor ternak yang berada pada lokasi dan waktu yang berbeda dan berjauhan. Faktor utama yang menjadi dasar potensi

teknik ini adalah bahwa ejakulat seekor hewan dewasa mengandung spermatozoa berlipat ganda lebih banyak daripada jumlah yang diperlukan bagi keberhasilan fertilisasi dalam seekor betina. [1]

Secara umum produksi semen pada sapi yaitu 5-10 ml/ejakulat dengan konsentrasi spermatozoa 1-2 milyar/ml (Foote,1993). Sapi Madura adalah salah satu bangsa sapi asli Indonesia, banyak didapatkan di Pulau Madura. Salah satu kelebihan sapi Madura adalah tahan terhadap kondisi pakan yang berkualitas rendah. Namun ada kecenderungan bahwa mutu sapi Madura menurun produktivitasnya atau terjadi pergeseran nilai (produktivitas) dari waktu ke waktu, yang sampai saat ini penyebabnya belum diketahui dengan jelas. Libido sapi madura calon pejantan sangat kuat, tetapi produktivitas semen masih agak rendah, yaitu rata-rata 1,0 – 1,3 ml/ejakulasi dengan konsentrasi 409 juta spermatozoa.[1]

Salah satu komponen terjadinya fertilisasi pada makhluk hidup adalah adanya spermatozoa. Hal ini sebagaimana dijelaskan dalam Al-Quran surat An-Nur/24 ayat 45 yang berbunyi :

وَاللَّهُ خَلَقَ كُلَّ دَابَّةٍ مِّن مَّاءٍ فَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَى بَطْنِهِ وَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَى رِجْلَيْنِ وَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَى أَرْبَعٍ يَخْلُقُ اللَّهُ مَا يَشَاءُ إِنَّ اللَّهَ عَلَى كُلِّ شَيْءٍ قَدِيرٌ

Dan Allah Telah menciptakan semua jenis hewan dari air, Maka sebagian dari hewan itu ada yang berjalan di atas perutnya dan sebagian berjalan dengan dua kaki sedang sebagian (yang lain) berjalan dengan empat kaki. Allah menciptakan apa yang dikehendaki-Nya, Sesungguhnya Allah Maha Kuasa atas segala sesuatu (QS. An-Nur/24 : 45)

Firman Allah tersebut menjelaskan bahwa semua jenis hewan yang salah satunya hewan berkaki empat termasuk sapi diciptakan dari air. Kata air dalam ayat ini merujuk pada dasar pembentukan seluruh kehidupan hewan yaitu diterapkan pada cairan mani atau yang biasanya disebut dengan semen. Semen merupakan salah satu bahan dasar penciptaan makhluk hidup yang berbentuk cairan.[6]

Salah satu faktor yang mempengaruhi keberhasilan IB adalah pada ketersediaan semen beku. Semen beku yang akan digunakan untuk IB diambil dari *container* N₂ cair yang mempunyai suhu -196^oC berbentuk padatan, oleh karena itu harus dilakukan *thawing* (pencairan kembali) sebelum dilaksanakan IB. Suhu dan lama *thawing* mempunyai pengaruh besar terhadap keadaan spermatozoa khususnya keutuhan spermatozoa dalam semen. Kombinasi suhu dan lama *thawing* yang baik adalah yang mengakibatkan sedikit kerusakan spermatozoa, sehingga tetap memiliki kemampuan membuahi ovum yang tinggi (8).

Banyak pendapat tentang berapa suhu dan lama *thawing* yang optimal untuk mendapatkan kualitas spermatozoa yang akan digunakan dalam pelaksanaan IB. Santoso (1998) telah melakukan penelitian tentang pengaruh suhu dan lama *thawing* terhadap kualitas semen kambing peranakan etawa (PE) dengan beberapa suhu yang bervariasi, namun disebutkan suhu yang paling baik yaitu suhu 45^oC. Sedangkan Sari (2008) yang melakukan penelitian pengaruh suhu dan lama *thawing* terhadap kualitas sperma sapi FH dengan suhu yang bervariasi

melaporkan, bahwa suhu paling baik yang digunakan untuk IB adalah suhu 37°C dengan lama thawing 30 detik.[5]

Berdasarkan apa yang dikemukakan di atas maka, perlu dilakukan penelitian yang lebih spesifik terkait dengan pengaruh suhu dan lama thawing terhadap kualitas sperma. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian tentang Pengaruh Suhu dan Lama Thawing terhadap Viabilitas Spermatozoa Sapi Madura.

Rumusan Masalah

Dari latar belakang di atas dapat dirumuskan masalah sebagai berikut : berapa suhu dan lama *thawing* semen beku sapi madura yang optimal untuk digunakan dalam IB ?

Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui suhu dan lama *thawing* semen beku sapi madura yang optimal untuk digunakan dalam IB.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang menggunakan Rancangan pola faktorial dengan dua faktor, yaitu suhu dan lama *thawing*, dengan masing-masing perlakuan 3 kali ulangan [13]

Alat dan Bahan

Dalam penelitian ini alat yang digunakan yaitu kontainer yang telah berisi nitrogen cair, pinset, *thermometer*, gunting, *waterbach*, kertas tisu dan *stopwatch*, objek glass, cover glass, mikroskop, kertas label. Sedangkan bahan yang digunakan adalah semen beku sapi madura yang diperoleh dari BBIB Singosari dan Eosin-negrosin.

Pemeriksaan Viabilitas Spermatozoa

Dalam pelaksanaan pemeriksaan ini digunakan preparat apus dengan pewarnaan Eosin-Negrosin. Spermatozoa ditetaskan di atas objek glass dan ditambahkan dengan satu tetes eosin-negrosin, kemudian dibuat preparat apus dan dikeringkan, kemudian menggunakan mikroskop dengan pembesaran 200 kali dan dihitung spermatozoa yang hidup (tidak menyerap warna) dan spermatozoa yang mati (menyerap warna) kemudian dicari persentasenya.[2]

Spermatozoa yang memiliki permeabilitas baik akan menghambat masuknya warna ke dalam membran sehingga tidak dapat menyerap warna (transparan), demikian juga sebaliknya. Perhitungan viabilitas dilakukan dengan mencari proporsi spermatozoa yang tidak menyerap warna (transparan) dengan yang menyerap warna.[2]

$$\% \text{ Viabilitas Spermatozoa} = \frac{\text{jumlah spermatozoa hidup}}{\text{total spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Salah satu faktor yang mempengaruhi keberhasilan Inseminasi Buatan (IB) adalah ketersediaan semen beku. Semen beku yang akan digunakan untuk IB

biasanya disimpan dalam *container* N₂ cair yang mempunyai suhu -196°C berbentuk padatan, oleh karena itu harus dilakukan thawing sebelum dilaksanakan IB. Suhu dan lama thawing mempunyai pengaruh besar terhadap kualitas spermatozoa. Untuk mengetahui kualitas spermatozoa salah satunya dengan melakukan uji mikroskopis viabilitas spermatozoa. Data viabilitas spermatozoa setelah *thawing* dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel Ringkasan Analisis Ragam Pengaruh Suhu dan Lama Thawing terhadap Viabilitas Spermatozoa Sapi Madura

SK	db	JK	KT	F hitung	F 1%	F 5%
Ulangan	2	103,63	51,82			
Perlakuan	8	2572,74	321,59	4,82**	3,89	
Suhu	2	1589,41	794,71	11,92**	6,23	
Lama	2	490,97	245,49	3,68*	6,23	3,63
SL	4	492,36	123,09	1,85	4,77	3,01
Galat	16	1067,04	66,69			
Total	26	6316,15				

** menunjukkan adanya perbedaan nyata pada signifikansi 1%

* menunjukkan adanya perbedaan nyata pada signifikansi 5%

Dari table diatas dapat dilaporkan bahwa hasil analisis sidik ragam tentang pengaruh suhu dan lama thawing terhadap viabilitas spermatozoa sapi Madura pada taraf signifikansi 99% menunjukkan F_{hitung} perlakuan suhu thawing $> F_{0,01 (2 : 16)}$ yakni $11,92 > 6,23$, maka H_0 ditolak dan H_1 diterima, hal ini menunjukkan ada pengaruh suhu thawing terhadap viabilitas spermatozoa. pada taraf signifikansi 95% F_{hitung} perlakuan lama thawing $> F_{0,05 (2 : 16)}$ yakni $3,68 > 3,63$, maka H_0 ditolak dan H_1 diterima, hal ini menunjukkan ada pengaruh lama thawing terhadap viabilitas spermatozoa

Untuk mengetahui suhu dan lama thawing yang memberikan perbedaan viabilitas spermatozoa, maka dilakukan uji BNJ. Berdasarkan hasil uji BNJ 1% dan 5% yang sudah dikonformasikan dengan nilai rata-rata suhu dan lama thawing pada spermatozoa sapi Madura maka diperoleh data seperti pada tabel berikut

Tabel Ringkasan Uji BNJ 1% Pengaruh Suhu Thawing terhadap viabilitas Spermatozoa Sapi Madura

Perlakuan Suhu	Total (%)	Rata-rata Viabilitas (%)	Notasi
40°C	487	54,11	a
34°C	620	68,89	b
37°C	644	71,56	b
BNJ _{0,01}		13,01	

Notasi yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata

Berdasarkan Tabel hasil uji BNJ 1% diatas menunjukkan bahwa terjadi perbedaan yang bervariasi pada perbedaan suhu thawing terhadap viabilitas spermatozoa sapi Madura. Dan juga dapat diketahui bahwa pada perlakuan suhu thawing 34°C dan 37°C menghasilkan viabilitas yang berbeda nyata dengan suhu



thawing 40°C, tetapi suhu thawing 37°C tidak memiliki perbedaan yang nyata dengan suhu thawing 34°C.

Tabel Ringkasan Uji BNJ 5% Pengaruh Lama Thawing terhadap viabilitas Spermatozoa Sapi Madura

Perlakuan Lama	Total (%)	Rata-rata Viabilitas (%)	Notasi
40 detik	537	59,67	a
35 detik	583	64,78	ab
30 detik	631	70,11	b
BNJ _{0,05}		9,94	

Notasi yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata

Berdasarkan Tabel hasil uji BNJ 5% diatas menunjukkan bahwa terjadi perbedaan yang bervariasi pada perbedaan lama thawing terhadap viabilitas spermatozoa sapi Madura. Dan juga dapat diketahui bahwa pada perlakuan lama thawing 30 detik menghasilkan viabilitas yang berbeda nyata dengan lama thawing 40 detik, tetapi tidak memiliki perbedaan yang nyata dengan lama thawing 35 detik, begitu pula lama thawing 35 detik tidak memiliki perbedaan yang nyata dengan lama thawing 40 detik.

Penelitian ini dilakukan karena banyak pendapat mengenai berapa suhu dan lama thawing yang dilakukan oleh inseminator di lapangan sebelum melakukan IB. Suhu dan lama thawing mempunyai pengaruh besar terhadap keadaan spermatozoa yang akhirnya berpengaruh terhadap keberhasilan IB.

Teknologi IB merupakan suatu berkah dari Allah SWT untuk umat manusia karena sesungguhnya IB dapat digunakan untuk memenuhi kebutuhan umat manusia dalam jumlah yang sangat besar. Salah satu manfaat dari IB adalah meningkatkan kualitas hewan ternak dengan menggunakan semen beku yang berkualitas baik. Dengan bioteknologi tersebut, umat manusia dapat meningkatkan kualitas hewan ternaknya. Dalam hal ini sapi pekerja seperti sapi madura bisa lebih unggul dengan cara yang lebih mudah. Spermatozoa sangat bermanfaat dalam proses perkembangbiakan makhluk hidup terutama pada manusia dan hewan, sebagaimana firman Allah SWT dalam QS. 'Abasa/80 ayat 19 yang berbunyi :

🔍 📄 📌 📍 📎 📏 📐 📑 📒 📓 📔 📕 📖 📗 📘 📙 📚 📛 📜 📝 📞 📟 📠 📡 📢 📣 📤 📥 📦 📧 📨 📩 📪 📫 📬 📭 📮 📯 📰 📱 📲 📳 📴 📵 📶 📷 📸 📹 📺 📻 📼 📽 📾 📿 📠 📡 📢 📣 📤 📥 📦 📧 📨 📩 📪 📫 📬 📭 📮 📯 📰 📱 📲 📳 📴 📵 📶 📷 📸 📹 📺 📻 📼 📽 📾 📿

Artinya : Dari setetes mani, Allah menciptakannya lalu menentukannya

Dari ayat di atas dapat dijelaskan bahwasannya Allah SWT menciptakan makhluk hidup termasuk di dalamnya manusia dan binatang seperti sapi dari setetes mani yang dalam bahasa biologinya disebut sperma. Kemudian dari setetes mani atau sperma yang telah Allah ciptakan, Allah juga menentukan nasib dari ciptaannya tersebut. Dan tentu hanya sperma yang memiliki kualitas yang baik yang dapat menghasilkan makhluk hidup, sebagaimana firman Allah dalam QS. An Najm/53 ayat 46 yang berbunyi :

🔍 📄 📌 📍 📎 📏 📐 📑 📒 📓 📔 📕 📖 📗 📘 📙 📚 📛 📜 📝 📞 📟 📠 📡 📢 📣 📤 📥 📦 📧 📨 📩 📪 📫 📬 📭 📮 📯 📰 📱 📲 📳 📴 📵 📶 📷 📸 📹 📺 📻 📼 📽 📾 📿

Artinya : Dari setetes mani yang dipancarkan

Kalimat Nutfatin dapat diartikan semen. Semen merupakan cairan yang tersusun dari campuran berbagai macam substansi seperti gula fruktosa, enzim

pengkoagulasi, asam askorbat dan prostaglandin yang dihasilkan oleh vesikula seminalis, mucus bening yang disekresikan kelenjar bulbouretralis, dan enzim antikoagulan, sitran dan sedikit asam yang disekresikan kelenjar prostate. Kandungan gula fruktosa diperlukan sebagai sumber energi bagi spermatozoa, mucus bening berfungsi untuk menetralkan asam yang tersisa diuretra dan dipintu masuk rahim dan melicinkan lingkungan agar memudahkan pergerakan spermatozoa serta sitrat sebagai nutrisi bagi spermatozoa. Selain itu juga dijelaskan bahwa kata kalimat Tumna berarti dipancarkan. Hal ini menunjukkan semen yang memiliki kualitas baik harus memiliki daya gerak yang kuat sehingga mampu untuk membuahi sel telur. Dan untuk mengetahui spermatozoa yang baik maka perlu dilihat dari beberapa faktor salah satunya viabilitas dari spermatozoa tersebut.[6]

Perbedaan afinitas warna karena permeabilitas membran sel yang lebih tinggi pada spermatozoa yang telah mati, sebagai akibat tidak ada lagi yang memelihara dan mengatur pompa natrium dan kalium sel, digunakan untuk menghitung persentase spermatozoa yang hidup dan yang mati untuk menentukan nilai viabilitas spermatozoa. Spermatozoa yang masih hidup akan tetap tidak berwarna saat diberi pewarnaan eosin, karena eosin yang terikat pada natrium dengan mekanisme pompa natrium akan terdorong keluar. Pada spermatozoa yang telah mati, tidak terdapat perbedaan potensial ion natrium dan kalium antara di dalam dan di luar sel, sehingga eosin yang berikatan dengan natrium akan dengan mudah berdifusi dan menunjukkan warna merah pada kepala spermatozoa saat diberi pewarna eosin. Sel-sel yang hidup sedikit sekali menghisap warna sedangkan sel-sel yang mati akan mengambil warna karena permeabilitas dinding sel meningkat sewaktu mati.[2] Zat warna eosin tidak bisa menyusup ke dalam spermatozoa hidup akibat membran plasmanya masih utuh.[3]

Suhu yang terlalu rendah dan terlalu tinggi selain mengakibatkan bocornya substansi vital dalam spermatozoa sehingga enzim intraseluler, lipoprotein, ATP, kalium intraseluler dan lemak berfosfor berkurang dan menyebabkan kerusakan membran plasma yang akhirnya menyebabkan viabilitas menurun.[12] Namun demikian, hasil pengamatan menunjukkan bahwa viabilitas spermatozoa sapi Madura pada berbagai suhu dan lama thawing menunjukkan bahwa semuanya layak digunakan untuk IB, karena memiliki nilai viabilitas 53% - 85% sebagaimana dijelaskan oleh Toelihere (1993) bahwa semen yang baik memiliki persentase viabilitas di atas 50%.

KESIMPULAN

Dari pembahasan di atas dapat disimpulkan bahwa suhu dan lama *thawing* yang berbeda memberikan pengaruh terhadap viabilitas spermatozoa sapi Madura. Suhu dan lama *thawing* yang optimal yaitu suhu 37°C dengan lama thawing 30 detik. Namun demikian perlu dilakukan uji variabel yang lain seperti motilitas dan abnormalitas untuk lebih menghasilkan kualitas sperma yang baik.



DAFTAR RUJUKAN

- [1] Hunter, R.H.F. 1995. *Physiology and Technology of Reproduction in Female Domestic Animal*. Alih Bahasa oleh Putra, D.K.H dan R.B. Matram. 1995. *Fisiologi dan Teknologi Reproduksi Hewan Betina Domestik*. Bandung : ITB.
- [2] Partodihardjo, Soebadi. 1992. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Jakarta : Mutiara Sumber Widya
- [3] R. H. Foote, "The History of Artificial Insemination: Selected Notes and Notables," *J. Anim. Sci*, vol. 80, pp. 1–10, 2010.
- [4] Santoso, Imam Dwi. 1998. *Pengaruh Suhu dan Lama Thawing Terhadap Kualitas Semen Beku Kambing Peranakan Etawa*. Skripsi. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya
- [5] Sari, Siti Nurmalia. 2008. *Pengaruh Suhu dan Lama Thawing Terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Fries Holland*. Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Malang.
- [6] Shihab, Q.M. 2002. *Tafsir Al-Misbah Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Quran* Jilid 11. Jakarta : Lentera Hati.
- [7] T. Susilawati, *Pedoman Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Malang: Universitas Brawijaya Press, 2013.
- [8] Toelihere. 1993. *Inseminasi Pada Ternak*. Bandung : Angkasa Bandung.
- [9] V. A. Nurgartiningih, "Peta Potensi Genetik Sapi Madura Murni di Empat Kabupaten di Madura," *J. Trop. Anim. Prod.*, vol. 12, no. 2, pp. 25–34, 2011.
- [10] W. O. Reece and E. W. Rowe, *Functional Anatomy and Physiology of Domestic Animals*. New Jersey: John Wiley & Sons, 2017.
- [11] Y. M. Hafez, *Assisted Reproductive Technologies in Farm Animals*. Egypt: ICMALPS, Alexandria University, 2015.
- [12] Yudhaningsih, H. 2004. *Kualitas dan Integritas Membran Spermatozoa Sapi Madura Menggunakan Motilitas dan Pengencer yang Berbeda dalam Proses Pembekuan Semen*. Skripsi. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya.
- [13] Zenichiro, K., Herliantien dan Sarastina. 2002. *Instruksi Praktis Teknologi Prosesing Semen Beku pada Sapi*. JICA. Malang : BBIB Singosari