

# PENGARUH JARAK STRAW DENGAN NITROGEN CAIR PADA PROSES PRE FREEZING TERHADAP KUALITAS SEMEN BEKU SAPI LIMOUSIN

## The Effect of Straw Space with Liquid Nitrogen on Pre freezing Process to the Frozen Semen Quality of Limousin Cows

Kurotul Aini<sup>a</sup>, Sri Suharyati<sup>b</sup>, Madi Hartono<sup>b</sup>

<sup>a</sup>The Student of Department of Animal Husbandry Faculty of Agriculture Lampung University

<sup>b</sup>The Lecture of Department of Animal Husbandry Faculty of Agriculture Lampung University  
Department of Animal Husbandry, Faculty of Agriculture Lampung University  
Soemantri Brojonegoro No.1 Gedung Meneng Bandar Lampung 35145  
Telp (0721) 701583. e-mail: [kajur-jptfp@unila.ac.id](mailto:kajur-jptfp@unila.ac.id). Fax (0721)770347

### ABSTRACT

This study aimed to determine the effect of straw space with liquid nitrogen on pre freezing process and the best straw space to the quality of frozen semen of Limousin Cows so that they are appropriate for Artificial Insemination process. This study was conducted in Regional Technical Service Unit-Regional Artificial Insemination Office Lampung, Terbanggi Besar District, Central Lampung Regency, Lampung Province on 7<sup>th</sup>—13<sup>th</sup> April 2014. The Completely Randomized Design (CRD) was used in these research with five treatments of straw spaces, 2 cm, 4 cm, 6 cm, 8 cm, and 10 cm, with 4 replications. The data obtained was analyzed by using variance analysis and continued by Polynomial Orthogonal test.

The result of this study showed that the straw space was significantly ( $P < 0,01$ ) to the motility and live spermatozoa after thawing. However it was not significantly ( $P > 0,05$ ) to the motility and live spermatozoa after pre freezing. Polynomial Orthogonal test, obtained that the straw space was significantly ( $P < 0,01$ ) to the motility and live spermatozoa after thawing, had quadratic pattern with equation of  $Y = -6,50 + 12,09x - 0,89x^2$ ;  $R^2 = 41,3\%$ , with the best effect on the straw space of 6 cm, that is 34%. Besides, the straw space was also different ( $P < 0,01$ ) to percentage of live spermatozoa after thawing, had quadratic pattern with equation of  $Y = 8,97 + 8,81x - 0,64x^2$ ;  $R^2 = 41,3\%$ , with the best effect on the straw space of 6 cm, that is 38,79%.

Keywords: semen quality, limousin cows, straw space

### PENDAHULUAN

Sapi Limousin adalah sapi yang pertama kali dikembangkan di Perancis. Sapi ini memiliki perototan yang lebih baik, bulu berwarna coklat tua kecuali di sekitar ambing berwarna putihserta lutut ke bawah dan sekitar mata berwarna lebih muda. Penerapan teknologi Inseminasi Buatan merupakan alternatif yang paling tepat untuk meningkatkan populasi Sapi Limousin dengan menggunakan semen beku. IB terbukti memiliki keunggulan dibandingkan dengan kawin alami, beberapa diantaranya adalah penggunaan pejantan unggul sehingga mempercepat perbaikan genetik, penghematan biaya, dan pencegahan penularan penyakit. Semen beku adalah semen yang telah diencerkan kemudian dibekukan dan disimpan pada kontainer N<sub>2</sub> cair suhu -196<sup>o</sup>C. Semen beku yang berkualitas baik mempunyai

persentase spermatozoa hidup dan motilitas yang tinggi.

Tahapan proses pembekuan meliputi pre freezing dan freezing. Pre freezing yaitu straw yang berisi semen disusun pada rak straw dan ditempatkan dalam uap N<sub>2</sub> cair sekitar 4,5 cm di atas permukaan nitrogen cair. Berdasarkan Peraturan Direktur Jenderal Peternakan Nomor :1220/HK.060/F/12/2007 Tentang Petunjuk Teknis Produksi dan Distribusi Semen Beku menunjukkan proses pre freezing dilakukan dalam storage kontainer, straw disusun dirak dan dilakukan 2—4 cm di atas permukaan N<sub>2</sub> cair selama 5—9 menit sedangkan di Balai Inseminasi Buatan Daerah (BIBD) Lampung melakukan proses pre freezing dengan jarak straw di atas permukaan nitrogen cair yang diterapkan yaitu 4 cm selama 9 menit.

Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) Singosari melakukan proses pre freezing straw yang berisi semen diatur pada rak straw dan

ditempatkan dalam uap N<sub>2</sub> cair sekitar 4,5 cm diatas permukaan nitrogen cair. Menurut Kaiin et al., (2004), ketinggian straw dari permukaan nitrogen cair sebesar 10 cm dengan volume nitrogen cair delapan liter menghasilkan motilitas spermatozoa sebesar 43%, spermatozoa hidup sebesar 39%. Belum ada informasi lebih lanjut mengenai jarak straw dengan N<sub>2</sub> cair yang terbaik terhadap kualitas semen beku sehingga perlu dilakukan penelitian jarak straw yang terbaik dengan nitrogen cair pada proses pre freezing terhadap kualitas semen beku Sapi Limousin.

## MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada 7—13 April 2014 di Balai Inseminasi Buatan Daerah (BIBD) Lampung, Kecamatan Terbanggi Besar, Kabupaten Lampung Tengah, Provinsi Lampung. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan jarak straw, yaitu 2 cm, 4 cm, 6 cm, 8 cm, dan 10 cm dengan 4 kali ulangan. Data yang diperoleh dianalisis ragam pada taraf 5% dan atau 1% serta dilanjutkan dengan uji Polinomial Ortogonal pada taraf 1% untuk perlakuan yang berbeda nyata terhadap peubah yang diukur.

Pelaksanaan penelitian dimulai dengan menampung semen dari pejantan Sapi Limousin menggunakan vagina buatan (artificial vagina), selanjutnya dilakukan evaluasi semen segar secara makroskopis (volume, konsistensi, warna, bau) dan mikroskopis (gerakan massa, gerakan individu, konsentrasi). Semen segar yang memenuhi syarat kemudian diencerkan dengan pengencer Andromed<sup>®</sup> secara merata. Selanjutnya dilakukan ekuilibrasi terhadap semen yang telah diencerkan. Pemeriksaan fre freezing dilakukan setelah ekuilibrasi selesai. Semen yang memenuhi standar akan dilanjutkan proses filling, sealing, dan printing. Langkah selanjutnya yaitu melaksanakan sampling terhadap straw berisi semen Sapi Limousin yang akan dibekukan. Sampel dibagi sesuai perlakuan jarak straw saat proses pre freezing.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Penilaian Kualitas Semen Segar

Semen segar yang digunakan dalam penelitian berasal dari hasil penampungan

Sapi Limousin berumur 6 tahun yang diperoleh dari BIBD Lampung.

Tabel 1. Hasil evaluasi kealitan semen segar

Parameter	Nilai
<b>Makroskopis</b>	
Volume (ml)	8
Warna	Krem
Bau	Khas
Konsistensi	Kental
<b>Mikroskopis</b>	
Konsentrasi (10 <sup>6</sup> /ml)	1568
Gerakan Massa	+++
Motilitas (%)	75
Spermatozoa hidup (%)	88,32

Keterangan:

+++ = Gelombang-gelombang besar, banyak, gelap, tebal, dan aktif serta bergerak cepat.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa volume semen adalah 8 ml. Hasil tersebut normal sesuai dengan pendapat Almquist (1968), volume semen yang dihasilkan sapi pejantan sebanyak 8 ml dengan kisaran 2—15 ml. Menurut Garner dan Hafez (2000), volume sapi pejantan sebanyak 5—8 ml/ejakulasi.

Warna dan konsentrasi yang digunakan dalam penelitian adalah normal dan sesuai dengan pendapat Hafez (2000) menyatakan bahwa warna semen normal adalah abu-abu keputihan hingga krem keputihan dengan konsistensi kental. Menurut Turyan (2005), konsistensi semen mempunyai korelasi dengan warna, misalnya semen yang berwarna krem biasanya konsistensinya pekat atau kental, sedangkan yang berwarna jernih atau terang biasanya konsistensinya encer.

Bau semen sapi yaitu khas semen yang menunjukkan bahwa semen tersebut normal dan tidak terdapat kontaminasi sehingga dapat dilakukan prosesing semen, hal ini sesuai dengan pendapat Rizal dan Herdis (2008) yang mengatakan bahwa pada umumnya bau semen dikategorikan sebagai bau khas.

Konsentrasi spermatozoa Sapi Limousin yang diperoleh adalah 1.568 juta/ml. Angka tersebut berada pada kisaran normal. Menurut Hafez (2000), konsentrasi spermatozoa sapi berkisar antara 800—2000 juta/ml.

Motilitas (gerakan) massa yang diperoleh adalah sangat baik (+++), terlihat bergelombang-gelombang besar, banyak, gelap, tebal, dan aktif serta bergerak cepat. Motilitas semen segar setelah penampungan adalah 75%. Hasil ini sesuai dengan Toelihere

(1993) yang menyatakan bahwa motilitas spermatozoa sapi di bawah 40% menunjukkan nilai semen yang kurang baik. Kebanyakan pejantan fertil mempunyai 50—80% spermatozoa motil aktif progresif.

Persentase spermatozoa hidup Sapi Limousin sangat baik, yaitu sebesar 88,32% dan angka ini sesuai dengan pernyataan Sonjaya et al.,(2005) menyatakan bahwa persentase hidup semen sapi segar sebesar 60—80%.

### Penilaian Kualitas Semen setelah Ekuilibrasi

Ekuilibrasi adalah waktu yang dibutuhkan oleh spermatozoa untuk menyesuaikan diri sebelum dilakukan pembekuan. Ekuilibrasi dilakukan dengan cara menempatkan straw pada temperatur 5<sup>0</sup>C selama empat jam. Data hasil pengamatan terhadap motilitas dan persentase spermatozoa hidup Sapi Limousin setelah ekuilibrasi disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Kualitas semen setelah ekuilibrasi

Parameter Kualitas	Nilai
Motilitas (%)	50
Spermatozoa Hidup (%)	87,17

Persentase motilitas spermatozoa setelah ekuilibrasi mengalami penurunan dari motilitas semen segar 75% menjadi 50% (Tabel 2). Menurut Sugiarti et al., (2004), proses pendinginan pada suhu 5<sup>0</sup>C akan menyebabkan penurunan motilitas spermatozoa akibat adanya asam laktat sisa metabolisme sel yang menyebabkan kondisi medium menjadi semakin asam karena penurunan pH. Kondisi ini dapat bersifat racun bagi spermatozoa yang akhirnya menyebabkan kematian spermatozoa.

Persentase spermatozoa hidup yaitu 87,17% (Tabel 2). Persentase spermatozoa hidup pada penelitian ini dapat dikatakan baik karena sesuai dengan pendapat Toelihere (1993) yang menyatakan bahwa semen yang baik memiliki persentase viabilitas lebih dari 50%. Tingginya persentase spermatozoa hidup pada penelitian ini disebabkan karena masih tersedianya sumber energi yang dibutuhkan spermatozoa dan tekanan osmotik yang masih isotonis sehingga dapat menjaga ketahanan hidup spermatozoa. Hasil penelitian Umar dan Maharani (2005) menunjukkan pada waktu ekuilibrasi didapatkan kualitas semen Sapi Limousin

yaitu motilitas spermatozoa 47,17 % dan persentase hidup spermatozoa 82,17 %.

Tingginya persentase spermatozoa hidup pada penelitian ini disebabkan oleh masih adanya sumber energi yang dibutuhkan spermatozoa sehingga dapat menjaga ketahanan hidup spermatozoa dan adanya peran penting seperti bahan pengencer Andromed<sup>®</sup>, hal ini sesuai dengan pendapat Herdis et al., (2008) yang menyatakan bahwa Andromed<sup>®</sup> adalah pengencer komersial dengan bahan dasar bebas protein hewani. Pengencer Andromed<sup>®</sup> mengandung gliserol yang berfungsi untuk menghasilkan energi dan membentuk fruktosa, sehingga menunjukkan spermatozoa yang optimum. Menurut Kuswanto et al., (2007) yang menyatakan bahwa Andromed<sup>®</sup> adalah pengencer yang dapat memberikan pengaruh terbaik terhadap persentase motilitas dan persentase spermatozoa hidup dibandingkan dengan susu skim.

### Pengaruh Jarak Straw terhadap Persentase Motilitas Spermatozoa setelah Pre freezing

Motilitas merupakan gerakan massa ke depan. Umar dan Maharani (2005) menyatakan bahwa daya gerak spermatozoa sangat penting karena diperlukan dalam saluran alat kelamin betina yang selanjutnya membuahi ovum. Hafez (1993) menyatakan bahwa motilitas digunakan sebagai ukuran kesanggupan membuahi suatu ovum.

Tabel 3. Rataan persentase motilitas spermatozoa setelah pre freezing

Ulangan	Jarak Straw (cm)				
	2	4	6	8	10
	-----%-----				
1	40	50	40	50	50
2	40	50	50	40	50
3	40	50	50	50	40
4	40	50	50	40	40
Rataan	40	50	48	45	45

Hasil analisis ragam (Tabel 3) menunjukkan bahwa perlakuan tidak berpengaruh nyata (P>0,05) terhadap persentase motilitas spermatozoa setelah pre freezing. Pada proses pre freezing, spermatozoa sedang beradaptasi dengan suhu dingin sebelum dimasukkan ke dalam N<sub>2</sub> cair (-196<sup>0</sup>C) sehingga akan mengurangi kerusakan

spermatozoa akibat cold shock. Pada proses ini kerusakan akibat cold shock belum terlalu tinggi dibandingkan setelah thawing sehingga jarak straw tidak berpengaruh nyata terhadap motilitas spermatozoa setelah pre freezing.

Persentase motilitas spermatozoa Sapi Limousin setelah pre freezing berkisar antara 40—50% (Tabel 3). Penggunaan bahan pengencer Andromed<sup>®</sup> mengandung gliserol dapat memberikan pengaruh baik terhadap persentase motilitas spermatozoa setelah pre freezing. Zenichiro et al., (2002) menyatakan bahwa gliserolisasi adalah penambahan gliserol pada media pengencer berfungsi melindungi dari efek lethal selama proses pembekuan. Gliserol dipakai sebagai zat pelindung pada proses pembekuan semen. Motilitas spermatozoa mengalami penurunan setelah pre freezing yaitu dari 75% menjadi 40%. Hal ini diduga karena terjadi kerusakan membran plasma yang menyebabkan motilitas spermatozoa menurun sesuai dengan pendapat Widiastuti (2001) bahwa kerusakan membran plasma dapat menurunkan motilitas spermatozoa. Kerusakan membran plasma spermatozoa menyebabkan terhentinya proses metabolisme untuk menghasilkan energi sehingga mengakibatkan motilitas spermatozoa menurun.

Menurut Situmorang (2002), penurunan motilitas spermatozoa setelah pre freezing diduga karena turunnya kandungan fosfolipid dan kolesterol. Kedua senyawa tersebut merupakan komponen membran. Fosfolipid berfungsi untuk melindungi sel spermatozoa dari cold shock, sedangkan kolesterol berperan penting dalam menjaga integritas sel spermatozoa dari variasi sistem membran yang bertambah selama proses pre freezing.

#### **Pengaruh Jarak Straw terhadap Persentase Motilitas Spermatozoa setelah Thawing**

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap persentase motilitas spermatozoa setelah thawing. Uji Polinomial Ortogonal juga menunjukkan pengaruh yang sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap persentase motilitas spermatozoa setelah thawing. Rataan persentase motilitas spermatozoa semen beku dari hasil penelitian ini disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Rataan persentase motilitas spermatozoa setelah thawing

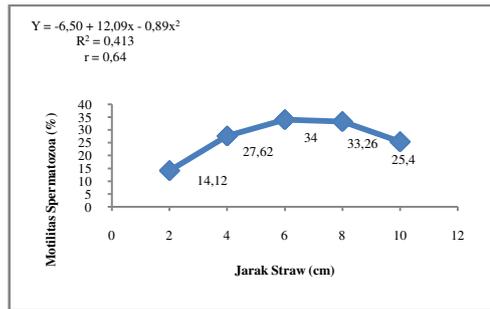
Ulangan	Jarak Straw (cm)				
	2	4	6	8	10
	-----%-----				
1	10	40	40	20	35
2	5	40	35	20	30
3	10	35	35	20	30
4	10	35	35	20	30
Rataan	8.75	37.50	36.25	20.00	31.25

Uji Polinomial Ortogonal menunjukkan bahwa pengaruh perlakuan terhadap motilitas spermatozoa setelah thawing berpola kuadrat dengan persamaan  $Y = - 6,50 + 12,09x - 0,89x^2$  dan koefisien determinan ( $R^2$ ) sebesar 0,413. Nilai Y merupakan persentase, sedangkan X adalah jarak straw dengan nitrogen cair. Nilai  $R^2$  berarti jarak straw memberikan pengaruh sebesar 41,3% terhadap motilitas spermatozoa setelah thawing dan sisanya 58,7% dipengaruhi oleh faktor lain di luar perlakuan. Koefisien korelasi adalah 0,64 menunjukkan hubungan yang erat antara perlakuan dengan persentase motilitas spermatozoa.

Persentase motilitas spermatozoa tertinggi yaitu 40,00 % diperoleh dari perlakuan jarak straw 4 cm dan 6 cm, sedangkan persentase motilitas spermatozoa terendah yaitu 5% dihasilkan oleh perlakuan jarak straw 2 cm. Hal ini disebabkan karena proses pembekuan dapat menyebabkan perubahan kualitas semen beku yang dihasilkan. Rendahnya motilitas spermatozoa setelah thawing disebabkan karena spermatozoa banyak mengalami kerusakan bahkan terjadi kematian akibat penurunan suhu terlalu cepat.

Semen beku Sapi Limousin yang dihasilkan memenuhi syarat untuk dipergunakan dalam inseminasi buatan yaitu mempunyai persentase motilitas post thawing sebesar 40%. Menurut Garner dan Hafez (2000), syarat minimal motilitas individu sperma post thawing agar dapat dipergunakan dalam inseminasi buatan adalah 40%.

Jarak straw dengan nitrogen cair yang optimal adalah 6 cm yang menghasilkan motilitas spermatozoa setelah thawing adalah 34%. Grafik pengaruh jarak straw dengan nitrogen cair dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hubungan antara perlakuan dengan persentase motilitas spermatozoa setelah thawing

Persentase motilitas spermatozoa setelah thawing menurun diduga selama proses pembekuan dan thawing terjadi kerusakan pada spermatozoa sehingga memengaruhi stabilitas dan fungsi-fungsi hidup membran sel. Pangestu (2002) menyatakan bahwa 50% spermatozoa akan mati setelah pembekuan dan thawing. Spermatozoa dapat rusak secara cepat pada proses pendinginan dan pembekuan. Menurut Maxwell dan Watson (1996), menurunnya motilitas juga dapat disebabkan oleh proses thawing. Selama thawing spermatozoa rentan sekali terhadap kerusakan sel sebagai akibat dari perubahan tekanan osmotik secara tiba-tiba yang disebabkan oleh pencairan yang cepat.

Motilitas spermatozoa segar yang didinginkan akan mengalami cold shock saat pembekuan, karena mengalami kristalisasi dan saat thawing mengalami warm shock. Rizal (2009) menyatakan bahwa kejutan dingin (cold shock) dan serangan radikal bebas diakibatkan kontak antara spermatozoa dengan oksigen pada saat koleksi dan pengolahan spermatozoa. Pembekuan spermatozoa juga dapat menurunkan viabilitas spermatozoa maupun group sulfidril yang terkandung dalam membran protein spermatozoa sehingga menimbulkan stress fisik dan kimia pada membran spermatozoa yang dapat menurunkan viabilitas dan kemampuan fertilitasnya (Chatterjee et al., 2001).

Berdasarkan hasil uji Polinomial Ortogonal dengan jarak straw 2 cm memiliki nilai motilitas yang rendah yaitu 14,12% , namun meningkat pada jarak straw 4 cm dengan nilai motilitas 27,62% kemudian

mengalami peningkatan lagi pada jarak straw 6 cm dengan nilai motilitas spermatozoa 34%. Pada jarak straw 8 cm mengalami penurunan motilitas spermatozoa yaitu 33,26% dan terjadi penurunan kembali pada jarak straw 10 cm yaitu 25,4%.

Hasil penelitian jarak straw 2 cm memiliki nilai motilitas spermatozoa terendah dan jarak straw 4 cm mengalami peningkatan. Hal ini diduga jarak straw 2 cm terlalu dekat dengan nitrogen cair menyebabkan penurunan suhu terlalu cepat sehingga terjadi kerusakan spermatozoa akibat cold shock. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Maxwell dan Watson (1996) yang menyatakan bahwa suhu yang rendah akan mengakibatkan struktur fosfolipid membran plasma akan berubah dari fase cair menjadi fase gel sehingga akan menyebabkan motilitas yang rendah.

Pada jarak straw 6 cm dari permukaan nitrogen cair merupakan jarak straw yang terbaik terhadap motilitas spermatozoa setelah thawing. Hal ini diduga jarak straw 6 cm tidak mengalami penurunan suhu secara drastis sehingga spermatozoa tidak banyak mengalami kerusakan akibat cold shock.

Motilitas spermatozoa setelah thawing mengalami penurunan pada jarak straw 8 cm dan 10 cm. Hal ini diduga karena terjadi penurunan suhu yang lebih lambat sehingga menyebabkan proses metabolisme tetap berjalan dan energi yang digunakan akan habis dengan cepat. Keadaan ini dapat meningkatkan asam laktat sebagai hasil akhir dari metabolisme spermatozoa. Konsentrasi asam laktat yang semakin tinggi menjadikan bahan pengencer semakin asam dan bersifat racun bagi spermatozoa yang akhirnya menyebabkan kematian spermatozoa.

#### Pengaruh Jarak Straw terhadap Persentase Spermatozoa Hidup setelah Pre freezing

Dari hasil penelitian ini dapat diketahui nilai persentase spermatozoa hidup setelah pre freezing berkisar antara 46,38—59,09% (Tabel 5). Persentase spermatozoa hidup pada penelitian ini dapat dikatakan baik karena sesuai dengan pendapat Toelihere (1993) yang menyatakan bahwa semen yang baik memiliki persentase spermatozoa hidup 50%.

Tabel 5. Rataan persentase spermatozoa hidup setelah pre freezing

Ulangan	Jarak Straw (cm)				
	2	4	6	8	10
	-----%-----				
1	53,33	51,13	48,63	54,72	57,81
2	46,38	53,39	57,35	49,59	58,33
3	58,21	59,09	56,76	57,98	46,46
4	49,30	57,81	55,70	49,61	50,82
Rataan	51,80	55,36	54,61	52,97	53,36

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan tidak berpengaruh nyata ( $P>0,05$ ) terhadap persentase spermatozoa hidup setelah pre freezing. Hal ini diduga karena proses pre freezing, spermatozoa sedang beradaptasi dengan suhu dingin untuk mencegah kematian spermatozoa lebih banyak sehingga terjadi kerusakan spermatozoa lebih sedikit dibandingkan setelah thawing. Proses pembekuan akan terjadi kerusakan membran spermatozoa akibat pembentukan kristal-kristal es yang menyebabkan perbedaan tekanan osmotik diluar dan didalam sel sehingga kematian spermatozoa lebih banyak.

### Pengaruh Jarak Straw Terhadap Persentase Spermatozoa Hidup setelah Thawing

Persentase spermatozoa hidup dapat ditentukan dengan pewarnaan eosin. Zat warna eosin akan mewarnai spermatozoa yang mati menjadi merah atau merah mudah (Toelihere, 1993). Salisbury dan Van Demark (1985) menyatakan bahwa spermatozoa yang mati menyerap zat warna dan spermatozoa yang hidup tidak menyerap zat warna.

Tabel 6. Rataan persentase spermatozoa hidup setelah thawing

Ulangan	Jarak Straw (cm)				
	2	4	6	8	10
	-----%-----				
1	23,53	50,00	41,67	33,71	41,60
2	11,76	44,36	38,52	30,61	37,30
3	24,32	36,22	37,07	32,14	34,19
4	24,44	38,24	40,00	31,87	37,25
Rataan	21,01	42,21	39,32	32,08	37,59

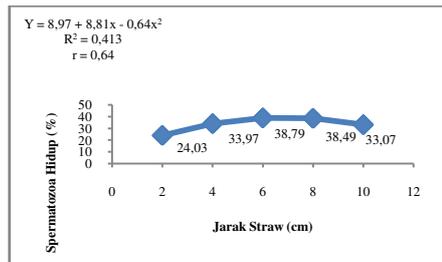
Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh sangat nyata ( $P<0,01$ ) terhadap persentase spermatozoa hidup setelah thawing. Uji Polinomial Ortogonal juga menunjukkan pengaruh yang sangat nyata ( $P<0,01$ ) terhadap persentase spermatozoa hidup setelah thawing. Uji Polinomial Ortogonal menunjukkan bahwa pengaruh perlakuan terhadap spermatozoa hidup setelah thawing berpola kuadrat dengan persamaan  $Y = 8,97 + 8,81x - 0,64x^2$  dan koefisien determinan ( $R^2$ ) sebesar 0,413. Nilai Y merupakan persentase,

sedangkan X adalah jarak straw dengan nitrogen cair. Nilai  $R^2$  berarti jarak straw memberikan pengaruh sebesar 41,3% terhadap spermatozoa hidup setelah thawing dan sisanya 58,7% dipengaruhi oleh faktor lain di luar perlakuan. Koefisien korelasi adalah 0,64 menunjukkan hubungan yang erat antara perlakuan dengan persentase spermatozoa hidup.

Dari analisis ragam dapat diketahui nilai persentase spermatozoa hidup setelah thawing berkisar antara 11,76—50,00 % (Tabel 6). Persentase spermatozoa hidup

tertinggi yaitu 50,00% diperoleh pada perlakuan jarak straw 4 cm dan terendah 11,76% diperoleh pada perlakuan jarak straw 2 cm.

Jarak straw dengan nitrogen cair yang optimal adalah 6 cm yang menghasilkan spermatozoa hidup setelah thawing yaitu 38,79%. Grafik pengaruh jarak straw dengan nitrogen cair dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hubungan antara perlakuan dengan persentase spermatozoa hidup setelah thawing

Berdasarkan hasil uji Polinomial Ortogonal dengan jarak straw 2 cm memiliki nilai motilitas yang rendah yaitu 24,03% , namun meningkat pada jarak straw 4 cm dengan nilai motilitas 33,97% kemudian mengalami peningkatan lagi pada jarak straw 6 cm dengan nilai motilitas spermatozoa 38,79%. Pada jarak straw 8 cm mengalami penurunan motilitas spermatozoa yaitu 38,49% dan terjadi penurunan kembali pada jarak straw 10 cm yaitu 33,07%.

Hasil penelitian ini jarak straw 2 cm memiliki nilai spermatozoa hidup terendah dan jarak straw 4 cm mengalami peningkatan. Hal ini diduga jarak straw 2 cm terlalu dekat dari nitrogen cair menyebabkan penurunan suhu lebih cepat sehingga spermatozoa mengalami kerusakan akibat cold shock. Terjadinya cold shock menyebabkan kerusakan membran plasma spermatozoa akibat terbentuknya peroksidasi lipid yang semakin banyak. Lipid merupakan komponen penting dalam membran sel mengandung asam laktat tak jenuh yang sangat rentan terhadap oksidasi sehingga menyebabkan terjadinya radikal bebas, terutama radikal bebas hidroksil. Radikal bebas hidroksil ini dapat menimbulkan reaksi rantai yang dikenal peroksidasi lipid. Proses peroksidasi lipid ini akan mengubah struktur spermatozoa terutama pada bagian membran, sehingga spermatozoa akan kehilangan fungsi permeabilitas, meningkatkan kerusakan spermatozoa yang

mengakibatkan kematian spermatozoa lebih banyak.

Pada jarak straw 6 cm dari permukaan nitrogen cair merupakan jarak straw yang terbaik terhadap persentase spermatozoa hidup setelah thawing diduga pada jarak ini tidak terjadi penurunan suhu secara drastis sehingga spermatozoa tidak banyak mengalami kerusakan akibat cold shock.

Spermatozoa hidup setelah thawing mengalami penurunan pada jarak straw 8 cm dan 10 cm. Hal ini terjadi karena penurunan suhu yang lebih lambat sehingga proses metabolisme tetap berjalan yang menyebabkan asam laktat meningkat. Pada proses metabolisme sumber energi dalam bahan pengencer akan berkurang sehingga terjadi penurunan daya gerak spermatozoa sampai terjadi kematian. Menurut Datta et al., (2009) menyatakan apabila terjadi perubahan suhu yang tidak sesuai secara ekstraseluler, maka permeabilitas fosfolipid rusak menyebabkan fluiditas membran terganggu sehingga terjadi kematian pada spermatozoa.

## SIMPULAN DAN SARAN

### Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini, maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Jarak straw dengan nitrogen cair pada proses pre freezing tidak berpengaruh nyata terhadap motilitas spermatozoa setelah pre freezing dan persentase spermatozoa hidup setelah pre freezing tetapi memberikan pengaruh sangat nyata terhadap motilitas spermatozoa setelah thawing dan persentase spermatozoa hidup setelah thawing
2. Berdasarkan uji Polinomial Ortogonal, jarak straw yang terbaik dengan nitrogen cair pada proses pre freezing terhadap motilitas spermatozoa dan spermatozoa hidup Sapi Limousin yaitu 6 cm.

### Saran

Agar diperoleh kondisi semen beku yang baik untuk dipergunakan dalam Inseminasi Buatan, disarankan untuk melakukan penelitian yang serupa dengan menggunakan spermatozoa dari jenis sapi yang berbeda.

## DAFTAR PUSTAKA

- Almquist, J.O. 1968. *Diary Cattle*. In : E.J.Perry (Ed.). *The Artificial Insemination of Farm Animals*. Fourth Revised Edition, Rutgers University Press. New Jersey.
- Chatterjee, S., E.R. Smith, Hanada, K. Stevens, VL. and S. Mayor. 2001. GPI anchoring leads to sphingolipid-dependent retention of endocytosed proteins in the recycling endosomal compartment. *EMBO J.* 20: 1583—1592
- Datta, U., M. C. Sekar, M. L. Hembram and R. Dasgupta. 2009. Development of a New Methode to Preserve Caprine Cauda Epididymal Spermatozoa in Situ at 10<sup>0</sup>C. *Proceedings*. Department of Veterinary and Animal Sciences West Bengal University of Animal and Fishery Sciences. Kolkata West Bengal. India.
- Garner, D. L. and E. S. E. Hafez. 2000. Spermatozoa and Seminal Plasma. in *Reproduction In Farm Animals*. Edited by E. S. E. Hafez. 7<sup>th</sup> Edition. Lippincott Williams and Wilkins. Maryland. USA.
- Hafez, E.S.E. 1993. *Semen Evaluation*. In : *Reproduction In Farm Animal*. 6<sup>th</sup> Edition. Lea and Febiger. Philadelphia. USA.
- Hafez, E. S. E. 2000. *Semen Evaluation*. In : *Reproduction In Farm Animals* 7<sup>th</sup> Edition. Lippincott Williams and Wilkins. Maryland. USA.
- Herdis, M., Surachman, Yulnawati, M. Rizal, dan H. Maheshwari. 2008. Viabilitas dan Keutuhan Membran Plasma Spermatozoa Epididimis Kerbau Belang Pada Penambahan Maltosa Dalam Pengencer Andromed®. <http://eprints.undip.ac.id/18998/1/33%282%292008p101-106.pdf> Diakses 14 September 2013.
- Kaiin, E. M., S. Said, F. Afianti dan M.Gunawan. 2004. Optimalisasi Pembekuan Semen Sapi PO: Perbaikan Teknik Pembekuan Sperma. *Pros. Seminar Nasional Industri Peternakan Modern*. Puslit Bioteknologi- LIPI. Makasar. 99—105.
- Kuswanto, S. Suharyati dan P. E. Santoso. 2007. Pengaruh Penggunaan Andromed, Stock Solution, dan Susu Skim Sebagai Bahan Pengencer Terhadap Kualitas Semen Cair Sapi Limousin Selama Penyimpanan. *Kumpulan Abstrak Jurusan Peternakan Fakultas Pertanian Unila*. Bandar Lampung. Maxwell, W.M.C. and P.F. Watson. 1996. Recent progress in the preservation of ram semen. *J. Anim. Reprod. Sci.* 42: 55—65.
- Pangestu, M. 2002. Preservation of spermatozoa : Methods and applications. *indonesian forum on reproduction. Journal on Reproduction*. 1(2) : 55—56.
- Rizal, M. dan Herdis. 2008. *Inseminasi Buatan pada Domba*. Rineka Cipta. Jakarta.
- Rizal, M. 2009. Daya hidup spermatozoa epididimis Sapi Bali yang dipreservasi pada suhu 3-5<sup>0</sup>C dalam pengencer tris dengan konsentrasi laktosa yang berbeda. *JITV Vol. 14 No. 2 th. 2009*. 142—149.
- Salisbury, G.W. dan N. L. Van Denmark. 1985. *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan Pada Sapi*. Terjemahan Djanuar, R. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Situmorang, P. 2002. The Effects of Inclusion of exogenous phospholipid in tris diluent containing a different level of egg yolk on the viability of bull spermatozoa. *Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan dan Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian*. Bogor. 7(3): 131—187.
- Sonjaya, H., Hasbi, Sutomo dan Hastuti. 2005. Pengaruh penambahan calcium ionophore terhadap kualitas spermatozoa kambing boer hasil sexing. *Jurnal Sains dan Teknologi*. 5(2) : 90—101.
- Sugiarti, T., E. Triwulanningsih, P. Situmorang, R. G. Sianturi dan D. A. Kusumaningrum. 2004. Penggunaan Katalase Dalam Produksi Semen Dingin Sapi. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*. Puslitbangnak. Bogor: 215—220.
- Toelihere, M. R. 1993. *Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Penerbit Angkasa Bandung.
- Turyan. 2005. Penurunan Motilitas Spermatozoa Pada Berbagai Bangsa Sapi Akibat Proses Pembekuan. *Skripsi: Program Sarjana Universitas Brawijaya*. Malang.
- Umar, S. dan M. Maharani. 2005. Pengaruh berbagai waktu ekuilibrisasi terhadap daya tahan sperma Sapi Limousin dan uji kebuntingan. *Jurnal Agribisnis Peternakan*. 1(1): 17—21.

- Widiastuti, E. 2001. Kualitas Semen Beku Sapi FH Dengan Penambahan Antioksidan Vitamin C dan E. Skripsi. Fakultas Peternakan IPB. Bogor.
- Zenichiro, K., Herliantien dan Sarastina. 2002. Teknologi Prosessing Semen Beku Pada Sapi. Balai Inseminasi Buatan Singosari. Malang.