

## PENGARUH SUHU DAN LAMA *THAWING* TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA KAMBING PERANAKAN ETAWA

Fitrik dan N. Supartini

PS. Produksi Ternak, Fakultas Pertanian, Universitas Tribhuwana Tungadewi

### Abstract

The purpose of this study was to determine the temperature and duration of thawing optimally of frozen sperm of Etawa crossbred (PE) goats used in the implementation of IB conducted in Laboratory of Animal Health and Reproduction of BBPP Batu. The material used in this study was 48 straw of goat sperm in size of 0.25 ml from Central Artificial Insemination (BBIB) Singosari. This research method used completely randomized design (CRD) with 3x4 factorial and 4 times repeating. The first factor is temperature of thawing and the second factor is thawing duration. The results show that the temperature and duration of thawing significantly affected ( $P < 0.05$ ) the percentage of mortality level; temperature, and duration of thawing also the percentage of viability level, and the highest percentage of abnormal spermatozoa of Etawa crossbred (PE) goats. It can be concluded that the temperature and duration of different thawing influence in the mortality, viability, and frozen sperm abnormalities of PE goats; with the best percentage mortality on treatment (S3T3) is 77.19%, the percentage of viability on the best treatment (S3T3) is 69.64%, while the best percentage of abnormality treatment (S3T3) is 16.86%.

*Key words: temperature and duration of thawing, sperm quality, etawa crossbred goats*

### Pendahuluan

Permintaan konsumsi daging dan produk-produk peternakan dalam negeri semakin meningkat seiring dengan meningkatnya pertumbuhan penduduk, peningkatan pendapatan dan daya beli serta meningkatnya kesadaran masyarakat terhadap pemenuhan gizi. Meningkatnya permintaan tersebut memberikan peluang untuk berkembangnya usaha dibidang peternakan (Anonymous, 2010). Sementara itu, pada sisi lain pertumbuhan populasi ternak secara nasional tidak mampu mengimbangi peningkatan konsumsi masyarakat sehingga berakibat adanya kelebihan permintaan. Dalam rangka menanggulangi masalah tersebut berbagai upaya ditempuh salah satunya dengan upaya meningkatkan jumlah populasi ternak dan perbaikan mutu genetik dengan menerapkan bioteknologi reproduksi

ternak yaitu inseminasi buatan (Arifiantini *et al*, 2005).

Inseminasi Buatan (IB) pada kambing merupakan salah satu teknologi reproduksi yang dapat dipakai untuk memperbaiki mutu genetika kambing lokal di Indonesia, walaupun penerapannya pada ternak kambing secara nasional masih dalam taraf uji coba. Keberhasilan program IB antara lain dipengaruhi oleh kondisi induk yang sedang birahi, kualitas semen khususnya motilitas spermatozoa setelah *thawing* (*Post Thawing Motility*) dan ketrampilan inseminator yang meliputi detek sibirahi, *thawing* dan penanganan semen serta pelaksanaan IB yang tepat waktu. Semen yang akan digunakan untuk IB minimal harus memiliki prosentase motilitas spermatozoa setelah *thawing* sebesar 40%, jumlah spermatozoa motil minimal 12 juta/*straw* dan prosentase spermatozoa

yang abnormal maksimal 10% (Feradis, 2010). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui suhu dan lama *thawing* semen beku kambing Peranakan Etawa (PE) yang optimal akan digunakan dalam pelaksanaan inseminasi buatan.

### Bahan dan Metode

Penelitian ini dilaksanakan pada 20 Agustus-20 September 2011 di Laboratorium Kesehatan Hewan dan Reproduksi BBPP Batu. Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah semen kambing PE *straw* mini ukuran 0,25 ml sebanyak 48 buah yang diperoleh dari Balai Inseminasi Buatan Singosari dengan nama induk pejantan Shena, Kode Bull: 200934, Kode Batch: JJ 018 dengan *Post Thawing Motility* 50%. Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat dan bahan untuk menyimpan semen beku, *thawing* dan pemeriksaan kualitas. Selain itu, alat dan bahan yang digunakan adalah *straw* semen kambing PE, termos, air penjepit

semen beku (*pinset*), *beaker glass* 1000 ml, *thermometer* dan *timer*, pipet tetes, pemanas air (*heater*) objek glass, cover glass, kawat ose, counter mikroskop, cairan eosin-nigrosin, kertas tisu, gunting dan kertas label.

### Uji motilitas spermatozoa

Pengamatan motilitas dengan menggunakan uji *Post Thawing Motility* (PTM) (Herliantien dan Sarastina, 2000) motilitas yang diukur adalah spermatozoa yang bergerak maju ke depan setelah mengalami perlakuan suhu dan lama *thawing*. Sampel semen diteteskan di atas objek glass dan ditutup cover glass dan diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Penilaian dilakukan dengan menghitung prosentase spermatozoa yang pergerakannya progresif maju ke depan dibandingkan dengan yang tidak bergerak sebanyak  $\pm 100$  spermatozoa (Partodiharjo, 2002).

$$\% \text{ Motilitas spermatozoa} = \sum \frac{\text{spermatozoa progresif}}{\text{total spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

### Uji viabilitas spermatozoa

Satu tetes spermatozoa diteteskan di atas objek glass dan ditambahkan dengan satu tetes eosin-negrosin, kemudian dibuat preparat ulas dan dikeringkan kemudian diamati  $\pm 100$  spermatozoa dengan menggunakan mikroskop pada perbesaran 400 kali dan dihitung spermatozoa yang hidup (tidak menyerap warna) dan spermatozoa yang mati (menyerap warna)

kemudian dicari prosentasenya (Partodihardjo, 2002). Spermatozoa dengan 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 menyerap warna dan tidak menyerap warna.

$$\% \text{ Viabilitas spermatozoa} = \sum \frac{\text{spermatozoa progresif}}{\text{total spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

### Uji abnormalitas spermatozoa

Prosentase abnormalitas spermatozoa dilakukan dengan menggunakan warna yang digunakan untuk pemeriksaan prosentase abnormalitas spermatozoa di

bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Perhitungannya adalah dengan membandingkan antara spermatozoa yang abnormal dengan spermatozoa yang normal pada luas pandang yang sama.

$$\% \text{ Abnormal spermatozoa} = \sum \frac{\text{spermatozoa abnormal}}{\text{total spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

### Analisis data

Data prosentase motilitas, viabilitas dan abnormalitas lebih dahulu ditransformasikan kemudian dianalisis dengan analisa sidik ragam untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dan interaksi antara suhu dan lama *thawing*. Jika terdapat perbedaan maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil.

## Hasil dan Pembahasan

### Motilitas spermatozoa

Motilitas atau daya gerak spermatozoa umumnya digunakan sebagai ukuran kesanggupan membuahi suatu sampel semen. Panas yang berlebihan dan bahan kimia atau benda asing lainnya akan menurunkan daya gerak sel kelamin jantan. Motilitas spermatozoa didalam suatu sampel semen ditentukan secara keseluruhan atau sebagai rata-rata dari suatu populasi sperma (Toelihere, 2003).

Pada Tabel 1 di atas dapat dilihat bahwa prosentase motilitas tertinggi pada suhu 40°C dengan lama *thawing* 30 detik (S3T3) yaitu 77,19%, pada suhu 35°C dengan lama *thawing* 30 detik (S2T3) yaitu 72,75%, sedangkan pada suhu 30°C dengan lama *thawing* 30 detik (S1T3) yaitu 54,62%. Untuk prosentase motilitas terendah pada perlakuan suhu 25°C dengan lama *thawing* 15 detik (S0T3) yaitu 36,04%.

Tabel 1. Motilitas spermatozoa kambing PE pada berbagai suhu dan lama *thawing*

Perlakuan		Motilitas spermatozoa (%)	
Suhu <i>thawing</i>	Lama <i>thawing</i>	Total	Rata-rata
S0 (25°C)	T0 (15 detik)	108.12	36.04
	T1 (20 detik)	121.33	40.44
	T2 (25 detik)	122.24	40.75
	T3 (30 detik)	136.65	45.55
S1 (30°C)	T0 (15 detik)	145.35	48.45
	T1 (20 detik)	151.29	50.43
	T2 (25 detik)	152.42	50.81
	T3 (30 detik)	163.86	54.62
S2 (35°C)	T0 (15 detik)	166.12	55.37
	T1 (20 detik)	200.42	66.81
	T2 (25 detik)	208.23	69.41
	T3 (30 detik)	218.24	72.75
S3 (40°C)	T0 (15 detik)	222.13	74.04
	T1 (20 detik)	227.34	75.78
	T2 (25 detik)	228.92	76.31
	T3 (30 detik)	231.56	77.19
Total		2804.22	

Dari hasil perlakuan dengan suhu dan lama *thawing* yang berbeda, rata-rata prosentase motilitas tertinggi pada lama *thawing* 30 detik, ini diduga pencelupan pada air saat *thawing* dengan durasi selama 30 detik memberikan ketahanan hidup pada spermatozoa yang lebih maksimal. Hal ini sesuai dengan pendapat Handiwirawan (2007) yang menyatakan bahwa suhu dan lama *thawing* mempunyai pengaruh besar terhadap keadaan spermatozoa, khususnya keutuhan spermatozoa dalam semen. Berdasarkan dari data hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan suhu dan lama *thawing* yang berbeda berpengaruh

nyata ( $P < 0.05$ ) terhadap tingkat motilitas spermatozoa kambing PE seperti tertera pada Tabel 1. Dari hasil penelitian terdahulu bahwa prosentase motilitas spermatozoa setelah ditambah bahan pengecer adalah rata-rata  $77,5\% \pm 3,54\%$ . Sedangkan dari hasil penelitian Rusdin (2006) melaporkan konsentrasi sperma antara 2000–6000 juta/ml semen setiap ejakulasi, kemudian dengan motilitas awal spermatozoa setelah penampungan berkisar antara 60–90%. Berdasarkan Anonymous (2005), kualitas semen setelah pencairan kembali harus menunjukkan spermatozoa hidup dan bergerak maju minimal 40% dan gerak individu minimal 2.

Dari data hasil penelitian pada Tabel 1, prosentase motilitas yang kurang layak untuk digunakan dalam pelaksanaan inseminasi adalah pada perlakuan S0T0 yaitu 36,04% pada suhu  $25^{\circ}\text{C}$  dengan lama *thawing* 15 detik. Hasil ini diduga, bahwa suhu yang terlalu rendah dengan lama *thawing* yang terlalu cepat menyebabkan kristal-kristal es belum mencair secara sempurna sehingga menghambat pergerakan sel spermatozoa secara aktif karena semen beku yang akan digunakan diambil dari *container* yang berisi nitrogen cair ( $\text{N}_2$ ) dengan suhu  $-196^{\circ}\text{C}$  berbentuk padatan.

#### *Viabilitas spermatozoa*

Uji viabilitas sel spermatozoa bertujuan untuk mengetahui status hidup atau mati sel spermatozoa menggunakan prosedur pewarnaan Hoechst-Propidium Iodide (Hoechst-PI). Spermatozoa dengan kepala yang berwarna merah digolongkan ke dalam spermatozoa mati, sedangkan spermatozoa dengan kepala ungu (violet) digolongkan ke dalam spermatozoa hidup.

Tabel 2. Viabilitas spermatozoa kambing PE pada berbagai suhu dan lama *thawing*

Perlakuan		Viabilitas spermatozoa (%)	
Suhu <i>thawing</i>	Lama <i>thawing</i>	Total	Rata-rata
S0 ( $25^{\circ}\text{C}$ )	T0 (15 detik)	146.25	48.75
	T1 (20 detik)	163.85	54.62
	T2 (25 detik)	164.79	54.93
	T3 (30 detik)	173.09	57.70
S1 ( $30^{\circ}\text{C}$ )	T0 (15 detik)	168.36	56.12
	T1 (20 detik)	182.65	60.88
	T2 (25 detik)	188.92	62.97
S2 ( $35^{\circ}\text{C}$ )	T3 (30 detik)	200.18	66.73
	T0 (15 detik)	196.12	65.37
	T1 (20 detik)	194.62	64.87
S3 ( $40^{\circ}\text{C}$ )	T2 (25 detik)	191.4	63.80
	T3 (30 detik)	192.4	64.13
	T0 (15 detik)	192.88	64.29
Total	T1 (20 detik)	197.41	65.80
	T2 (25 detik)	207.81	69.27
	T3 (30 detik)	208.91	69.64
Total		2969.64	

Dari Tabel 2 dapat dilihat bahwa pada perlakuan (S0T3) dengan suhu  $25^{\circ}\text{C}$  persentase viabilitas tertinggi yaitu 57,70% dengan lama *thawing* 30 detik. Pada perlakuan (S1T3) dengan suhu  $30^{\circ}\text{C}$  persentase viabilitas yaitu 66,73% dengan lama *thawing* 30 detik. Sedangkan perlakuan (S2T3) pada suhu  $35^{\circ}\text{C}$  persentase tertinggi pada lama *thawing* 30 detik yakni 64,13%, dan persentase tertinggi dari perlakuan dalam penelitian ini adalah pada perlakuan (S3T3) pada suhu  $40^{\circ}\text{C}$  dengan lama *thawing* 30 detik yaitu 69,64%. data yang digunakan merupakan data awal yang di transformasikan ke archin. Pada Tabel 2 persentase viabilitas spermatozoa hasil pengamatan, menunjukkan hanya pada suhu  $25^{\circ}\text{C}$  dengan lama *thawing* 15 detik tidak layak digunakan untuk IB, karena suhu dan lama tersebut persentase viabilitas hanya 48,75%. Menurut Toelihere, (2003) menyatakan bahwa semen yang baik

memiliki persentase viabilitas diatas 50%. Data hasil penelitian menunjukan bahwa perlakuan suhu dan lama *thawing* yang berbeda berpengaruh nyata ( $P < 0.05$ ) terhadap tingkat viabilitas spermatozoa seperti yang terlihat pada Tabel 2.

Faktor lain yang dapat menyebabkan tingginya persentase viabilitas spermatozoa selain pada saat pembekuan dan *thawing*, juga pada saat perlakuan perhitungan spermatozoa hidup dan mati menggunakan pewarnaan diferensial.

#### *Abnormalitas spermatozoa*

Abnormalitas spermatozoa merupakan penyimpangan morfologi dari kerangka normal spermatozoa. Perbedaan antara spermatozoa abnormal dan spermatozoa yang normal terbentuk pada waktu spermatogenesis dan abnormal sebagai akibat dari perlakuan semen.

Tabel 3. Abnormalitas spermatozoa kambing PE pada berbagai suhu dan lama *thawing*

Perlakuan		Abnormalitas spermatozoa (%)	
Suhu <i>thawing</i>	Lama <i>thawing</i>	Total	Rata-rata
S0 (25°C)	T0 (15 detik)	104.64	34.88
	T1 (20 detik)	104.62	34.87
	T2 (25 detik)	101.83	33.94
	T3 (30 detik)	96.55	32.18
S1 (30°C)	T0 (15 detik)	94.82	31.61
	T1 (20 detik)	89.81	29.94
	T2 (25 detik)	84.44	28.15
S2 (35°C)	T3 (30 detik)	86.38	28.79
	T0 (15 detik)	78.33	26.11
	T1 (20 detik)	74.5	24.83
S3 (40°C)	T2 (25 detik)	66.69	22.23
	T3 (30 detik)	61.46	20.49
	T0 (15 detik)	55.69	18.56
Total	T1 (20 detik)	54.48	18.16
	T2 (25 detik)	53.88	17.96
	T3 (30 detik)	50.58	16.86
Total		1258.7	

Data Tabel 3 merupakan data awal yang ditransformasikan ke archin dari data tersebut menunjukan bahwa rata-rata terkecil hasil pada perlakuan (S0T3) dengan suhu 25°C lama *thawing* 30 detik, dengan persentase abnormalitas 32,18%. Pada perlakuan (S1T3) dengan suhu 30°C dan lama *thawing* 30 detik persentase abnormalitas sebesar 28,79%. Kemudian pada perlakuan (S2T3) dengan suhu 35°C dan lama *thawing* 30 detik dengan nilai 20,49% sedangkan persentase terendah pada perlakuan (S3T3) dengan suhu 40°C dan lama *thawing* 30 detik yakni dengan nilai 16,86%. Dari Tabel 3 diperoleh hasil, bahwa perlakuan pada suhu 35°C dengan lama *thawing* 20 detik, 25 detik dan 30 detik masih layak untuk digunakan dalam pelaksanaan IB, sedangkan yang kurang layak untuk digunakan dalam pelaksanaan IB dari perlakuan tersebut adalah pada suhu *thawing* S0(25°C), S1( 30°C) dan S2 (35°C), dengan lama *thawing* 15 detik, 20 detik dan 25 detik, sedangkan pada lama *thawing* 30 detik dengan persentase abnormalitas sebesar 20,49% masih layak untuk dipertimbangkan dalam pelaksanaan IB. Hasil penelitian bahwa perlakuan suhu dan lama *thawing* yang berbeda berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap tingkat persentase abnormalitas Spermatozoa kambing PE. Menurut Hafez (2000) menyatakan bahwa abnormalitas spermatozoa pada semen kambing sebesar 8-10% tidak berpengaruh pada fertilitas, tetapi apabila abnormalitas melebihi 25% dari total ejakulasi maka akan berpengaruh pada fertilitas. Kemudian Partodhiardjo, (2002) juga menyatakan bahwa abnormalitas yang lebih dari 20% menunjukkan kualitas spermatozoa yang jelek. Spermatozoa yang abnormal biasanya dapat membuahi sel telur, tetapi biasanya akan menyebabkan kematian anak sebelum lahir (Widya, 2010). Dari hasil pemeriksaan abnormalitas spermatozoa ditemukan berupa kepala tanpa ekor, ekor yang

melingkar serta kepala yang kecil. Menurut Suryadi dan Susilawati (2003), bahwa abnormalitas morfologi spermatozoa diklasifikasikan pada lima kategori yaitu: ekor, bentuk kepala abnormal, bentuk ekor abnormal, bentuk morfologi sel spermatozoa yang dilaporkan oleh Hafez, (2000) berpengaruh terhadap pembuahan, jika jumlah abnormalitas spermatozoa terlalu tinggi maka akan menurunkan fertilitasnya. Abnormalitas spermatozoa pada beberapa ternak bervariasi. Menurut Hafez, (2000) menyatakan bahwa abnormalitas spermatozoa domba bekisar 5-20%, sapi 5-35%, kuda 10-40% dan ayam 10-15%.

### Kesimpulan

Penelitian ini dapat disimpulkan bahwa suhu dan lama *thawing* yang berbeda memberi pengaruh terhadap motilitas, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa semen beku kambing PE (peranakan etawa). Dengan persentase untuk motilitas terbaik pada perlakuan (S3T3) sebesar 77,19%, persentase viabilitas terbaik pada perlakuan (S3T3) sebesar 69,64%, sedangkan untuk persentase abnormalitas terbaik pada perlakuan (S3T3) yaitu sebesar 16,86%.

### Daftar Pustaka

- Anonymous. 2005. Badan Standarisasi Indonesia. Standar Nasional Indonesia Semen beku Sapi. Jakarta.
- Anonymous. 2010. Birahi Pada Induk Kambing. [Http://www.KambingIndonesia.com](http://www.KambingIndonesia.com) diakses pada tanggal 05 Desember 2011.
- Arifiantini, I., T. L. Yusuf dan Graha N. 2005. Longivitas Dan Recoveryrate Pasca Thawing Semen Beku Sapi Friesian Holstein Menggunakan Bahan Pengencer Yang Berbeda. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Feradis. 2010. Bioteknologi Reproduksi Pada Ternak. Alfabeta. Bandung.
- Hafez, ESE. 2000. Anatomy of female reproduction. Ed pp. 29-55.
- Handiwirawan. 2007. Optimalisasi Jenis Pengencer Pada Proses Pembekuan Semen Kambing PE. Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Herlientien dan Sarastina. 2000. Penampungan, Prosesing, Distribusi dan Evaluasi Semen Beku di Balai Inseminasi Buatan Singosari. BIB Singosari. Malang.
- Partodiharjo, S. 2002. Fisiologi Reproduksi Hewan. Mutiara Sumber Widya. IPB. Bogor.
- Rusdin. 2006. Karakteristik Semen Segar Pejantan Kambing PE di Balai Pembibitan Ternak dan Hijauan Makanan Ternak Garahan Jember. Program Pascasarjana. Universitas Padjajaran. Bandung.
- Suyadi dan Susilawati. 2002. Pengantar Fisiologi Reproduksi. LUW Animal Husbandry Project. Universitas Brawijaya. Malang.
- Toelihere, MR. 2003. Inseminasi Buatan Pada Ternak. Penerbit Angkasa. Bandung.
- Widya, A.P. 2010. Produksi Mani Beku. Bahan ajar pelatihan inseminasi buatan swadana angkatan VI. Balai Besar Pelatihan Peternakan . Batu.