

Original Article

## Pengaruh lama *thawing* dengan air dingin pada semen beku sapi Peranakan Ongole terhadap kualitas semen

Nursahida Ramadhani<sup>1</sup>, Achadiyah Rachmawati<sup>1</sup>, Ahmad Budi Purnawan<sup>2</sup>, Trinil Susilawati<sup>1</sup>,  
Aulia Puspita Anugra Yekti<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya, Malang, 65145

<sup>2</sup>Balai Besar Inseminasi Buatan Singosari, Malang, 65153

\*Correspondence: [auliapay@ub.ac.id](mailto:auliapay@ub.ac.id)

Received: July 11<sup>th</sup>, 2022; Accepted: November 24<sup>th</sup>, 2022; Published online: November 28<sup>th</sup>, 2022

### Abstrak

**Tujuan:** Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh lama proses pencarian menggunakan (*thawing*) air dingin pada semen beku sapi Peranakan Ongole terhadap kualitas semen meliputi motilitas, viabilitas, abnormalitas dan total spermatozoa motil.

**Metode:** Metode yang digunakan yaitu eksperimen laboratorium dengan menggunakan lima perlakuan dan sepuluh kali ulangan pada sampel semen beku sapi Peranakan Ongole. Data dianalisis menggunakan varian RAK dan dilanjutkan dengan DMRT, apabila terdapat perbedaan nyata. Dilakukan uji *Chi Square* pada motilitas individu dan total spermatozoa motil, untuk membandingkan dengan Standar Nasional Indonesia (SNI) kualitas semen beku. Penelitian ini dilakukan dengan lima perlakuan yaitu P0 dengan lama waktu *thawing* 30 detik dengan suhu 37°C, sedangkan P1, P2, P3 dan P4 masing-masing menggunakan lama waktu *thawing* secara berurutan yaitu 15, 30, 45 dan 60 detik dengan suhu yang sama yaitu 28°C.

**Hasil:** Hasil *thawing* terbaik adalah P2 menghasilkan rata-rata motilitas individu 49,9±6,0 %, viabilitas 65,1±7,2%, abnormalitas 4,0±1,8% dan total spermatozoa motil 19,3±4,0 juta/*straw*. Hasil *thawing* terbaik adalah P2 menghasilkan rata-rata motilitas individu 49,9±6,0 %, viabilitas 65,1±7,2%, abnormalitas 4,0±1,8% dan total spermatozoa motil 19,3±4,0 juta/*straw*.

**Kesimpulan:** Terdapat pengaruh lama dan suhu *thawing* pada kualitas semen beku sapi Peranakan Ongole terhadap kualitas semen.

**Kata Kunci:** Inseminasi buatan; Semen beku; *Thawing*

### Abstract

**Objective:** The purpose of this research was to determine the effect of thawing durations using cold water on Ongole Crossbred Bull frozen semen towards semen quality including motility, viability, abnormality and total motile spermatozoa.

**Methods:** The method used was experimental in the laboratory using five treatments and ten replications on frozen semen samples of Ongole Crossbred Bull. The data were analyzed using Randomized Block Design variance and continued with DMRT if there was a significant difference. Motility and total motile spermatozoa were tested by Chi Square test to compare with the SNI standard for frozen semen quality. In this research, five treatments were carried out, T0 with a thawing time of 30 seconds with

a temperature of 37°C, while T1, T2, T3 and T4 each used a thawing time of 15, 30, 45 and 60 seconds with temperature of 28°C.

**Results:** The best thawing results were T2 with individual motility 49,9±6.0%, viability 65,1±7,2%, abnormality 4,0±1,8 %, concentration of 39,1±10,2 million/straw and total motile spermatozoa 19,3±4,0 million/straw.

**Conclusions:** In conclusion, the duration and temperature of thawing can affected the quality of Ongole Crossbred frozen semen.

**Keywords:** Artificial insemination; Frozen semen; Thawing

## PENDAHULUAN

Inseminasi Buatan (IB) adalah teknologi yang telah diterima masyarakat karena terbukti dapat meningkatkan produktivitas ternak. Sapi adalah salah satu jenis ternak yang dapat dilakukan IB. Faktor yang mempengaruhi keberhasilan IB, salah satunya yaitu penanganan semen beku. Penanganan semen beku yaitu berupa proses pencairan (*thawing*) semen beku. Hal yang harus diperhatikan pada proses *thawing* adalah suhu yang digunakan, sebab perubahan suhu dapat mempengaruhi daya tahan hidup spermatozoa sapi potong [1]. Lama waktu dalam melakukan kegiatan *thawing* juga dapat mempengaruhi kualitas spermatozoa sapi [2].

Pelaksanaan *thawing* di lapang, sering ditemukan masih banyak belum sesuai Standar Nasional Indonesia (SNI) semen beku. *Thawing* sesuai SNI menggunakan air dengan suhu 37-38°C selama 30 detik [3]. Ketidaksesuaian *thawing* dapat ditemukan dari hasil beberapa survey, salah satunya yaitu di daerah Kabupaten Kerinci, petugas inseminator melakukan *thawing* dengan cara merendam *straw* di air sumur daripada air hangat [4], sedangkan untuk air sumur belum tentu memiliki suhu yang stabil karena dapat terpengaruh beberapa faktor seperti lingkungan maupun cuaca. Selain itu, terdapat inseminator yang melakukan *thawing* menggunakan lama waktu tidak sesuai dengan pedoman SNI, seperti di daerah Kota Bangun, Samarinda yaitu banyak peternak melakukan *thawing* dengan lama waktu 30-60 detik [5].

Ketidaksesuaian *thawing* yang tidak berdasarkan SNI juga ditemukan pada inseminator yang melakukan *thawing* dengan air ledeng atau air sumur dengan suhu 28°C. Air ledeng memiliki suhu berkisar 25-30°C, alasan penggunaan air ledeng sebagai media *thawing* karena lebih efektif [6]. Penggunaan air ledeng atau air sumur pada *thawing* juga digunakan

di beberapa tempat, salah satunya di Unit Lapangan IB di Prafi SP 1 yaitu melakukan *thawing* menggunakan air sumur yang di masukkan dalam botol dengan lama waktu 10-20 menit [7], sedangkan seharusnya menurut SNI yaitu *thawing* menggunakan suhu 37°C dengan waktu 30 detik. Alasan inseminator melakukan *thawing* di lapang menggunakan suhu 28°C karena lebih efektif dan efisien serta inseminator terkadang tidak bisa membawa atau menyediakan air dengan suhu 37°C. Oleh sebab itu, penelitian ini perlu dilakukan untuk menentukan waktu *thawing* yang tepat dengan air sumur atau ledeng bersuhu 28°C agar kualitas semen beku sapi Peranakan Ongole sesuai dengan SNI.

Berdasarkan uraian di atas, maka dilakukan penelitian untuk menentukan landasan perlakuan *thawing* menggunakan air ledeng. Penelitian ini diharapkan terdapat pengaruh suhu dan lama *thawing* terhadap kualitas semen sapi Peranakan Ongole dan juga diharapkan hasil dapat menyelesaikan masalah di dalam implementasi *thawing* di lapang yang dilakukan oleh inseminator.

## MATERI DAN METODE

### Materi

Materi yang digunakan adalah semen beku sapi Peranakan Ongole yang berasal dari Balai Besar Inseminasi Buatan Singosari, Malang dengan kode *straw* BBIB SINGOSARI SNI PO ALINDO 21431 TT 0430 sebanyak 50 *straw*.

### Uji kualitas semen beku

Metode penelitian yang dilakukan adalah metode eksperimental di laboratorium, yang terdiri atas 5 perlakuan dengan 10 kali ulangan. Perlakuan penelitian sebagai berikut, P0= *thawing* dengan air bersuhu 37°C selama 30 detik, P1= *thawing* dengan air dingin bersuhu

28°C selama 15 detik, P2= *thawing* dengan air ledeng bersuhu 28°C selama 30 detik, P3= *thawing* dengan air ledeng bersuhu 28°C selama 45 detik dan P4= *thawing* dengan air ledeng bersuhu 28°C selama 60 detik. Setelah proses *thawing* dilakukan, maka dilanjutkan uji kualitas semen beku sapi Peranakan Ongole dengan variabel penelitian yaitu motilitas individu, viabilitas, abnormalitas dan total spermatozoa motil.

#### Persentase motilitas individu

Motilitas individu diamati dengan menggunakan mikroskop yaitu dengan cara semen beku yang sudah dilakukan *thawing*, diletakkan pada objek glass dan ditutup menggunakan *cover glass*, kemudian diamati pergerakan spermatozoa progresif dengan perbesaran 400x [8].

#### Persentase viabilitas

Uji viabilitas dilakukan dengan meletakkan semen sapi Peranakan Ongole yang sudah di *thawing* ke *object glass* dengan menggunakan ose, diambil eosin-negrosin dengan ose dan dicampurkan keduanya. Langkah selanjutnya, diulas dengan *object glass* yang lain, kemudian diamati dengan mikroskop perbesaran 400x. Langkah terakhir dihitung dengan perhitungan sebagai berikut [9].

$$\text{Viabilitas (\%)} = \frac{\sum \text{spermatozoa hidup}}{\sum \text{spermatozoa total}} \times 100\%$$

#### Persentase abnormalitas

Hasil uji viabilitas dilanjut dengan uji abnormalitas yaitu dengan mengamati spermatozoa yang normal dan yang tidak normal. Jumlah spermatozoa yang diamati minimal sebanyak 200 spermatozoa dan dinyatakan dengan persen. Berikut cara perhitungannya [10].

$$\text{Abnormalitas (\%)} = \frac{\sum \text{spermatozoa abnormal}}{\sum \text{spermatozoa total}} \times 100\%$$

#### Total spermatozoa motil

Total spermatozoa motil dapat diperoleh dari mengkalikan persentase motilitas individu dengan konsentrasi spermatozoa dalam juta/ straw. Berikut bentuk perhitungannya [8].

$$\text{Total spermatozoa motil (\%)} = \text{KS} \times \text{MS}$$

KS = Konsentrasi Spermatozoa (juta/ straw)

MS = Motilitas Spermatozoa (%)

#### Analisis data

Analisis data dari hasil pengamatan 5 perlakuan, diulang sebanyak 10 kali dianalisis ragam (ANOVA) dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dilanjutkan dengan DMRT. Uji *Chi Square* dilakukan untuk variabel motilitas dan total spermatozoa motil. RAK, uji DMRT dan uji *Chi Square* dianalisis menggunakan *Microsoft Excel*.

Berikut model matematika dari RAK [11]

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan:

$Y_{ij}$  = nilai pengamatan pada perlakuan ke - i kelompok ke - j

$\mu$  = nilai tengah umum

$\tau_i$  = pengaruh perlakuan ke - i

$\beta_j$  = pengaruh kelompok ke - j

$\varepsilon_{ij}$  = galat percobaan pada perlakuan ke-i & kelompok ke-j

p = banyaknya perlakuan

r = banyaknya kelompok / ulangan

Selain dilakukan analisis RAK, pada penelitian ini juga dilakukan uji *Chi Square*. Uji *Chi Square* dilakukan untuk membandingkan dengan Standar Nasional Indonesia (SNI). Berikut rumus untuk *Chi Square* [11].

$$\text{Chi Square (X2)} = \frac{(O - E)^2}{E} \times 100\%$$

Keterangan:

O = hasil observasi

E = hasil yang diharapkan

#### HASIL

Hasil analisis statistik menjelaskan bahwa pengaruh lama *thawing* dalam air dengan suhu 28°C pada semen beku sapi PO memberikan pengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap kualitas semen yaitu motilitas individu, viabilitas, abnormalitas dan total spermatozoa motil.

#### Motilitas individu

Hasil uji kualitas semen Peranakan Ongole berdasarkan uji statistik diperoleh hasil yaitu

**Tabel 1.** Hasil rata- rata *thawing* spermatozoa sapi Peranakan Ongole

Perlakuan	Motilitas individu (%)	Viabilitas (%)	Abnormalitas (%)	Total spermatozoa motil (juta/straw)
P0	43,80±6,6 <sup>b</sup>	56,01±10,3 <sup>a</sup>	6,46±1,2 <sup>ab</sup>	13,77±2,3 <sup>b</sup>
P1	36,40±3,7 <sup>a</sup>	71,06±6,9 <sup>b</sup>	6,16±2,2 <sup>a</sup>	10,45±2,3 <sup>a</sup>
P2	49,90±6,0 <sup>c</sup>	65,12±7,2 <sup>b</sup>	4,04±1,8 <sup>a</sup>	19,28±4,0 <sup>d</sup>
P3	49,90±4,3 <sup>c</sup>	64,97±8,7 <sup>b</sup>	8,40±4,9 <sup>b</sup>	14,53±3,2 <sup>bc</sup>
P4	48,20±5,0 <sup>bc</sup>	67,06±5,6 <sup>b</sup>	5,78±1,9 <sup>a</sup>	14,53±2,2 <sup>b</sup>

\*Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan pengaruh nyata ( $P < 0,05$ )

lama dan suhu *thawing* berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap motilitas individu dari semen beku sapi Peranakan Ongole.

Perlakuan kontrol (P0) dan P2 menggunakan lama waktu *thawing* yang sama yaitu 30 detik dengan suhu berbeda 37°C dan 28 °C, diperoleh perbandingan yaitu P2 lebih tinggi daripada P0. P1, P3 da P4 dengan lama waktu yang berbeda dan suhu yang sama diperoleh hasil *fluktuatif*, pada P1 rata- rata motilitas individu spermatozoa mengalami kenaikan sampai pada pada P2 dan P3 dan mengalami penurunan pada P4.

Hasil statistik yang dijelaskan pada Tabel 1 menunjukkan bahwa perlakuan terbaik yaitu P2 dengan lama waktu 30 detik dan suhu 28°C menghasilkan nilai rata-rata ± simpangan baku sebesar 49,90±6,0%. Hasil yang paling rendah pada P1 sebesar 36,40±3,7%, menggunakan lama waktu 15 detik dan suhu 28°C. Hasil perbandingan dengan SNI di setiap perlakuan pada variabel motilitas individu menggunakan uji *Chi Square*, memperoleh hasil bahwa hanya pada P2, P3, dan P4 ( $P < 0,05$ ) artinya motilitas individu P2, P3, dan P4 diatas standar SNI.

### Viabilitas

Pengaruh berbagai perlakuan terhadap viabilitas, setelah di uji statistik menghasilkan ( $P < 0,05$ ) artinya lama dan suhu *thawing* berpengaruh nyata terhadap viabilitas dari semen beku sapi Peranakan Ongole.

Perlakuan dengan suhu *thawing* yang berbeda yaitu 37°C dan 28°C dengan lama waktu yang sama yaitu 30 detik, dihasilkan P0 lebih rendah daripada P2. Pada P1, P2, P3 dan P4 dengan menggunakan lama waktu *thawing* yang berbeda yaitu 15, 30, 45, 60 detik dan suhu *thawing* yang sama yaitu 28°C dihasilkan data yang *fluktuatif* yaitu P1 diperoleh hasil rata- rata viabilitas paling tinggi kemudian mengalami penurunan rata- rata viabilitas pada P2. Pada P3

juga mengalami penurunan rata-rata viabilitas serta mengalami kenaikan sedikit pada P4.

Hasil statistik pada Tabel 1 menjelaskan bahwa perlakuan terbaik viabilitas berada pada P1 yaitu dengan lama waktu 15 detik dan suhu 28°C menghasilkan nilai rata-rata ± simpangan baku sebesar 71,1±5,6%. Hasil paling rendah pada P0 sebesar 56,01±10,3% menggunakan lama waktu 30 detik dan suhu 37°C.

### Abnormalitas

Hasil data Abnormalitas setelah di uji statistik dengan RAK menghasilkan ( $P < 0,05$ ) yang berarti lama dan suhu *thawing* berpengaruh nyata terhadap abnormalitas dari semen beku sapi Peranakan Ongole.

Perlakuan kontrol P0 dan P2 yang menggunakan lama waktu *thawing* yang sama yaitu 30 detik, dengan suhu *thawing* yang berbeda secara berurutan yaitu 37°C dan 28°C menghasilkan abnormalitas P2 lebih rendah dari P0. Perlakuan suhu *thawing* yang sama yaitu 28°C dengan lama waktu yang berbeda pada P1, P2, P3 dan P4 yaitu 15, 30, 45, 60 detik menghasilkan abnormalitas yang *fluktuatif*, diperoleh hasil yaitu P1 mengalami penurunan pada P2, tetapi pada P3 mengalami kenaikan dan mengalami penurunan lagi pada P4 yaitu sebesar 5,8%.

Hasil dari perlakuan abnormalitas pada Tabel 1 yang paling tinggi berada pada P3 yaitu dengan lama waktu 45 detik dan suhu 28°C menghasilkan nilai rata-rata ± simpangan baku yaitu 8,40±5,6%. Hasil yang paling rendah pada P2 yaitu 4,04±1,8% yang menggunakan lama waktu 30 detik dan suhu 28°C.

### Total spermatozoa motil

Pengaruh perlakuan terhadap total spermatozoa motil diperoleh dari uji statistik RAK total spermatozoa motil yaitu ( $P < 0,05$ ) yang berarti lama dan suhu *thawing* berpengaruh nyata

terhadap total spermatozoa motil dari semen beku sapi Peranakan Ongole.

Perlakuan kontrol P0 dengan P2 yang menggunakan lama waktu *thawing* yang sama dengan suhu yang berbeda 37°C dan 28°C di hasilkan P0 lebih rendah daripada P2. Pada perlakuan suhu yang sama yaitu 28°C dengan perbedaan lama waktu *thawing* P1, P2, P3 dan P4 yaitu 15, 30, 45, 60 detik, dihasilkan total spermatozoa motil perlakuan pada P1 mengalami kenaikan pada P2 dan mengalami penurunan pada P3 dan P4.

Perlakuan terbaik total spermatozoa motil yang dijelaskan pada Tabel 1 berada pada P2 yaitu dengan lama waktu 30 detik dan suhu 28°C menghasilkan nilai rata-rata  $\pm$  simpangan baku sebesar 19,28 $\pm$ 4,0 juta/*straw*. Hasil yang paling rendah pada P1 sebesar 10,45 $\pm$ 2,3 juta/*straw* menggunakan lama waktu 15 detik dan suhu 28°C. Uji *Chi Square* pada setiap perlakuan menghasilkan ( $P < 0,05$ ) pada P0, P2, P3 dan P4 menunjukkan bahwa total spermatozoa motil dari semen beku Sapi Peranakan Ongole di atas standar SNI. Hasil keseluruhan data dapat di peroleh perlakuan terbaik yaitu pada P2 dengan waktu perlakuan 30 detik dan suhu 28°C, menghasilkan rata-rata motilitas individu 49,9 $\pm$ 6,0%, viabilitas 65,1 $\pm$ 7,2%, abnormalitas 4,0 $\pm$ 1,8% dan total spermatozoa motil 19,3 $\pm$ 4,0 juta/*straw*.

## PEMBAHASAN

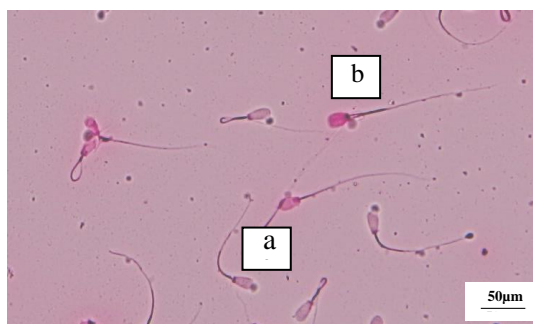
Motilitas individu adalah salah satu uji kualitas semen beku yang dilakukan dengan melihat pergerakan spermatozoa yang maju (progresif). Pergerakan individu spermatozoa menjadi faktor yang mempengaruhi keberhasilan IB. Gerak individu spermatozoa yang normal adalah bergerak secara *progresif* atau maju agar bisa melakukan fertilisasi. Pergerakan spermatozoa *progresif* diperlukan untuk transportasi di saluran reproduksi betina, sehingga dapat terjadi fertilisasi [12].

Hasil data penelitian menjelaskan bahwa pengaruh lama dan suhu *thawing* semen beku sapi Peranakan Ongole berpengaruh pada motilitas individu. Hasil penelitian menjelaskan dengan suhu *thawing* yang berbeda dan lama *thawing* yang sama, yaitu P0 dengan suhu 37°C lama waktu 30 detik dan P2 dengan suhu 28°C lama waktu 30 detik menghasilkan bahwa P0 lebih

rendah daripada P2, tetapi P0 dan P2 memiliki hasil sesuai dengan standar SNI yaitu minimum 40% [3]. Rendahnya P0 bisa terjadi akibat tingginya suhu *thawing* dibandingkan suhu lingkungan, sehingga menyebabkan motilitas individu turun, kondisi ini biasa disebut *heat shock effect*. *Heat shock effect* bisa terjadi karena perbedaan suhu *thawing* yang tinggi dibandingkan suhu lingkungannya, menyebabkan penurunan motilitas spermatozoa [13]. *Heat shock effect* bisa terjadi pada P0 tetapi tidak dengan P2. Hal ini terjadi karena adanya perbedaan waktu dan hari yang berbeda dalam melakukan *thawing*, sehingga akan terdapat pengaruh suhu lingkungan yang berbeda. Pada P4 yaitu 28°C lama waktu 60 detik mengalami penurunan dari perlakuan sebelumnya. Penurunan pada P4, bisa terjadi karena terlalu lama dalam melakukan *thawing*. Durasi *thawing* yang terlalu lama dapat mengakibatkan meningkatnya aktivitas metabolisme secara massal, sehingga meningkatkan produksi asam laktat dan berpengaruh pada konsentrasinya yang bersifat *toxic*, berakibat rendahnya daya gerak spermatozoa dan membuat spermatozoa cepat mati [14]

Motilitas yang terbaik pada P2 dengan perlakuan lama waktu 30 detik dengan suhu 28°C, menunjukkan bahwa pada P2 memiliki ketahanan hidup yang lebih maksimal. P1 yang menggunakan suhu 28°C dan waktu 15 detik, memiliki kualitas lebih rendah dari semua rata-rata. Penyebab rendahnya motilitas pada perlakuan adalah terlalu cepat dalam melakukan *thawing* sehingga menyebabkan spermatozoa masih banyak yang dalam keadaan diam. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya bahwa akibat proses *thawing* yang cepat menyebabkan spermatozoa lebih banyak tidak bergerak maupun bergerak mundur [15].

Uji *Chi Square* tiap perlakuan menunjukkan bahwa P2, P3, dan P4 dengan perlakuan suhu yang sama yaitu 28°C dengan lama waktu *thawing* secara berurutan yaitu 30, 45 dan 60 detik memiliki hasil motilitas di atas SNI, sehingga P0 dengan suhu 37°C lama waktu 30 detik dan P1 dengan suhu 28°C lama waktu 15 detik dari hasil uji *Chi Square* memiliki standar kualitas yang belum memenuhi SNI, sesuai SNI motilitas spermatozoa yaitu minimum 40% [3]. Pada rata-rata P0 dijelaskan bahwa motilitas individu sesuai dengan SNI, tetapi ketika dilakukan uji lanjut yaitu uji *Chi Square* memperoleh hasil



**Gambar 1.** Hasil pengamatan parameter viabilitas  
a) Spermatozoa hidup, b) Spermatozoa mati

yang berbeda. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat faktor yang membuat P0 motilitas individu rendah. Faktor rendahnya motilitas individu spermatozoa pada P0 bisa disebabkan oleh data motilitas individu setiap *straw* memiliki nilai bervariasi dan terdapat data yang memiliki perbedaan yang signifikan, sehingga mempengaruhi data kelompok yang digunakan untuk uji *Chi Square*.

Viabilitas adalah uji kualitas yang dilakukan untuk mengetahui persentase spermatozoa hidup atau mati setelah diberi perlakuan. Uji viabilitas untuk mengetahui spermatozoa hidup atau mati didasarkan pada perbedaan warna menggunakan pewarnaan eosin-negrosin [16]. Spermatozoa hidup ditandai dengan spermatozoa tidak berwarna menandakan spermatozoa tidak menyerap pewarna dan spermatozoa tidak hidup ditandai dengan spermatozoa berwarna artinya spermatozoa menyerap warna. Hasil pengamatan viabilitas dapat dilihat pada Gambar 1.

Hasil penelitian menjelaskan bahwa lama dan suhu *thawing* berpengaruh nyata terhadap viabilitas dari semen beku sapi Peranakan Ongole. Pada penelitian yang dilakukan dijelaskan juga, bahwa perlakuan dengan suhu *thawing* yang berbeda dan lama waktu *thawing* yang sama yaitu P0 dengan perlakuan suhu 37°C lama waktu 30 detik dan P2 perlakuan suhu 28°C lama waktu 30 detik dihasilkan P0 lebih menurun dari pada P2. Pada P1, P2, P3 dan P4 dengan menggunakan lama waktu *thawing* yang berbeda secara berurutan yaitu 15, 30, 45 dan 60 detik dengan suhu yang sama yaitu 28°C memperoleh hasil pada P4 mengalami kenaikan sedikit dibanding perlakuan sebelumnya. Terjadinya kenaikan pada P4 menunjukkan bahwa pada P4 dinding membran spermatozoa masih bekerja dengan baik, sehingga tidak menyerap warna [17].

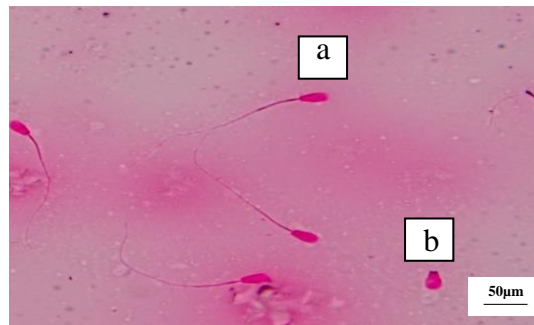
Data hasil penelitian setelah dibandingkan, menyatakan bahwa P1 dengan perlakuan lama waktu 15 detik dan suhu 28°C memiliki viabilitas lebih tinggi dibandingkan perlakuan yang lain. Tingginya viabilitas spermatozoa disebabkan karena dinding membran masih berfungsi dengan baik, sehingga metabolisme spermatozoa tidak terganggu membuat zat warna tidak masuk [18].

Perlakuan yang menghasilkan viabilitas rendah yaitu P0 dengan lama waktu 30 detik dengan suhu 37°C. Rendahnya viabilitas pada P0 kemungkinan terjadi karena adanya tekanan panas dan kontak dengan oksigen saat proses *thawing* dan pengamatan, sehingga membuat membran spermatozoa yang terdiri dari fosfolipid mengalami reduksi dan menimbulkan asam lemak dan proses peroksidasi sel [19].

Uji kualitas semen yang mengamati normal dan tidak normalnya spermatozoa disebut uji kualitas semen abnormalitas. Abnormalitas adalah penyimpangan dari bentuk morfologi normal spermatozoa yang dapat menyebabkan penurunan daya fertilitas [20]. Hasil data abnormalitas menjelaskan bahwa lama dan suhu *thawing* berpengaruh nyata terhadap abnormalitas dari semen beku sapi Peranakan Ongole. Hasil pengamatan abnormalitas dapat dilihat pada Gambar 2.

Hasil keseluruhan perlakuan terhadap abnormalitasnya masih sesuai standar SNI yaitu dibawah 20% [21]. Perlakuan untuk hasil abnormalitas yang terendah dibandingkan perlakuan lain berada pada P2 dengan perlakuan lama waktu 30 detik dan suhu 28°C. Perlakuan dengan abnormalitas paling tinggi terletak pada P3 yaitu perlakuan lama waktu 45 detik dan suhu 28°C.

Abnormalitas pada spermatozoa yang paling banyak dijumpai pada penelitian ini,



**Gambar 2.** Hasil pengamatan parameter abnormalitas  
a) Spermatozoa abnormalitas, b) Spermatozoa normal

diantaranya berupa ekor atau kepala putus, kepala pecah dan ukuran kepala kecil. Kerusakan selaput kepala dapat menyebabkan spermatozoa kehilangan kesuburan dan untuk kerusakan di ekor akan menyebabkan kehilangan kemampuan untuk bergerak [22]. Abnormalitas sekunder dapat terjadi akibat proses distribusi dari penampungan sampai tempat penelitian yang menyebabkan guncangan yang keras pada tabung penyimpanan, *cold shock* ada proses pembekuan dan pemanasan yang terlalu lama pada saat *thawing* [23].

Total spermatozoa motil digunakan untuk mengetahui jumlah sperma dalam 1 ml semen. Berdasarkan uji DMRT menghasilkan data yang menunjukkan bahwa rata-rata total spermatozoa motil yang paling terbaik adalah P2 dengan lama waktu 30 detik dan suhu 28°C. Tingginya total spermatozoa motil P2 sejalan dengan tingginya motilitas dari P2. Jumlah spermatozoa dan motilitas individu sangat mempengaruhi total spermatozoa motil [24]. Perlakuan yang menghasilkan kualitas total spermatozoa motil yang rendah daripada lainnya terdapat pada P1 dengan lama waktu dan suhu *thawing* 15 detik dan 28°C.

Hasil uji *Chi Square* menjelaskan P0 dengan suhu 37°C dan lama waktu *thawing* 30 detik dan P2, P3, P4 dengan suhu yang sama 28°C, lama waktu *thawing* berbeda secara berurutan 30, 45, 60 detik menunjukkan bahwa P0, P2, P3 dan P4 memenuhi standar untuk digunakan karena memiliki total spermatozoa motil di atas 10 juta. Hal ini sesuai Standar Nasional Indonesia bahwa total spermatozoa motil yang baik yaitu minimal berjumlah 10 juta/*straw*. Hasil total spermatozoa motil berasal dari hasil kali motilitas yaitu 40% dengan standar jumlah konsentrasi 25 juta/*straw* [3].

Berdasarkan keseluruhan dari variabel penelitian uji kualitas semen, perlakuan terbaik yaitu P2 dengan lama waktu 30 detik dan suhu

28°C. Hal ini didasarkan pada SNI yang menjelaskan bahwa standar kualitas semen beku didasarkan pada motilitas, konsentrasi dan total spermatozoa motil [3], selain itu, dasar utama semen beku dapat digunakan untuk IB yaitu pada motilitas dari semen tersebut [25]. Viabilitas dan abnormalitas pada penelitian ini sebagai bahan pendukung data penelitian untuk kualitas semen beku. Hasil data kualitas semen beku sapi PO yang tertinggi terdapat pada P2 yaitu motilitas individu 49,9±6,0%, viabilitas 65,1±7,2%, abnormalitas 4,0±1,8% dan total spermatozoa motil 19,3±4,0 juta/*straw*.

## KESIMPULAN

Hasil pengamatan yang dilakukan pengaruh suhu dan lama waktu *thawing* semen beku Peranakan Ongole berpengaruh nyata pada kualitas semen yaitu motilitas, viabilitas, abnormalitas dan total spermatozoa motil. Hasil pengamatan yang telah dilakukan di peroleh perlakuan terbaik yaitu P2 menggunakan lama waktu 30 detik dan suhu 28°C, dengan hasil motilitas individu 49,9±6,0%, viabilitas 65,1±7,2%, abnormalitas 4,0±1,8% dan total spermatozoa motil 19,3±4,0 juta/*straw*.

## KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dengan pihak manapun terkait materi yang ditulis pada naskah ini

## UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih kepada Hibah Penelitian LPPM UB yaitu Hibah Peneliti Pemula 2021 dengan No. Kontrak 536.116.1/UN10.C10/PN/2021 yang telah mendanai penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Wulandari, I. A., dan S. A. Prihatno. 2014. Pengaruh berbagai temperatur *thawing* semen beku terhadap keberhasilan inseminasi buatan pada sapi potong. *Jurnal Sain Veteriner*. 32: 40-45.
2. Malinda, D., H. Santoso, dan H. Latuconsina. 2021. Analisis viabilitas spermatozoa sapi Friesien Holstein (*Bos taurus*) post *thawing* semen beku dengan pengaruh suhu dan lama waktu *thawing* berbeda. *BIOSAIN TROPIS (Bioscience-Tropic)*. 6(2): 4-51.
3. Badan Standarisasi Nasional. 2021. Semen beku sapi. Badan Standarisasi Nasional. SNI 48691:2021. BSN Jakarta.
4. Amidia, L., F. Hoesni, dan B. Rosadi. 2021. Analisis keberhasilan inseminasi buatan (IB) ternak sapi berdasarkan karakteristik inseminator di Kabupaten Kerinci. *Jurnal Ilmiah Universitas Batanghari Jambi*. 21:467-476. Doi: 10.33087/jiubj.v21i2.1481
5. Ardhani, F., Lukman, dan F. Juita. 2021. Peran faktor peternak dan inseminator terhadap keberhasilan inseminasi buatan pada sapi potong di Kecamatan Kota Bangun. *Jurnal Peternakan Lingkungan Tropis*. 3:15-22. Doi: 10.30872/jpltrop.v3i1.3701
6. Pratiwi, W. C., L. Affandhy, dan D. Ratnawati. 2009. Pengaruh lama *thawing* terhadap kualitas semen beku Sapi Limousin dan Brahman. *J. Anim. Prod.* 11:48-52.
7. Sritiasni dan E. Purwono. 2016. Pengaruh suhu dan lama *thawing* semen beku Sapi Limousin terhadap motilitas spermatozoa. *Jurnal Triton*. 7(1):91-96.
8. Susilawati, T. 2013. Pedoman inseminasi buatan pada ternak. Universitas Brawijaya Press, Malang.
9. Susilawati, T. 2011. *Spermatology*. Universitas Brawijaya Press, Malang.
10. Susilawati, T. dan A. P. A. Yekti. 2018. Teknologi inseminasi buatan menggunakan semen cair (liquid semen). Universitas Brawijaya Press, Malang.
11. Sudarwati, H., M. H. Natsir, dan V. M. A. Nurgiantiningsih. 2019. Statistik dan rancangan percobaan penerapan dalam bidang peternakan. Universitas Brawijaya Press, Malang.
12. Yumte, K., B. Wantouw, dan E. D. Queljoe. 2013. Perbedaan motilitas spermatozoa sapi jantan (Friesian Holstein) setelah pemberian cairan kristaloid - ringer laktat. *Jurnal e-Biomedik*. 1:184-189. Doi: 10.35790/ebm.v1i1.1614
13. Aprilina, N., S. Suharyati, dan P. E. Santosa. 2014. Pengaruh suhu dan lama *thawing* di dataran rendah terhadap kualitas semen beku Sapi Simmental. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*. 2:96-102. Doi: 10.23960/jipt.v2i3.p%25p
14. Salim, M. A., T. Susilawati, dan S. Wahyuningsih. 2012. Pengaruh metode *thawing* terhadap kualitas semen beku sapi Bali, sapi Madura dan sapi PO. *Jurnal Agripet*. 12:14-19. Doi: 10.17969/agripet.v12i2.197
15. Kusumawati, E. D., A. T. N. Krisnaningsih, dan R. R. Romadlon. 2016. Kualitas sperma tozoa semen beku sapi Simental dengan suhu dan lama *thawing* yang berbeda. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan (Indonesian J. Anim. Sci.)*. 26:38-41.
16. Rachmawati, A., Ismaya, B. P. Widyobroto, S. Bintara, and T. Susilawati. 2020. Effect of different bovine serum albumin (BSA) levels on the sperm viability of Ongole Cross Bred Bull during 5°C storage. *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.* 478:1-5. Doi: 10.1088/1755-1315/478/1/012068
17. Pratama, J. W. A., D. A. K. Sari, dan M. Sigit. 2018. Pengaruh beberapa metode *thawing* terhadap kualitas semen beku sapi Simental. *Jurnal Ilmiah Fillia Cendekia*. 3:35-38. Doi: 10.32503/fillia.v3i2.254
18. Fauzan, M., M. Hartono, dan P. E. Santosa. 2014. Pengaruh suhu dan lama *thawing* di dataran rendah terhadap kualitas semen beku sapi Brahman. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*. 2:1-7. Doi: 10.23960/jipt.v2i3.p%25p
19. Malinda, D., H. Santoso, dan H. Latuconsina. 2021. Analisis viabilitas spermatozoa sapi Friesian Holstein (*Bos Taurus*) post *thawing* seemen beku dengan pengaruh suhu dan lama waktu *thawing* berbeda. *BIOSAIN TROPIS (Bioscience-Tropic)*. 6(2): 46-51.
20. Sinurat, L. H., B. Rosadi, dan S. Erina. 2020. Efek penyimpanan epididimis sapi Bali pada suhu 5°C terhadap kualitas



- spermatozoa. Jurnal Peternakan Sriwijaya. 9:27-34. Doi: 10.33230/JPS.9.2.2020.10988
21. Wahyutea, H. R., Sutopo, dan Y. S. Ondho. 2015. Pengaruh jarak dan waktu tempuh terhadap post *thawing* motility, abnormalitas dan spermatozoa hidup semen beku. Anim. Agric. J. 4:149-154.
22. Prihantoko, K. D., A. Kusumawati, D. T. Widayati, and M. Pangestu. 2020. Effects of storage duration on mitochondrial activity and DNA fragmentation of post-thawed spermatozoa from several Ongole Grade Bull in Indonesia. Veterinary Practitioner. 21:264-268.
23. Kusumawati, E. D., S. Rahardi, S. Santoso, D. L. Yulianti. 2019. Pengaruh lama *thawing* yang berbeda pada suhu 25°C terhadap kualitas semen beku sapi Ongole. Jurnal Ilmu Teknologi Peternakan Tropis. 6:119-123.
24. Heriyanta, E., M. N. Ihsan dan N. Isnaini. 2013. Pengaruh Umur Kambing Peranakan Etawa (PE) terhadap Kualitas Semen Segar. Jurnal Ternak Tropika. 14: 1-5.
25. Sonar, B. P., R. P Tiwari, M. R. Poyam, G. K. Mishra, A. K. Pandey, A. K Nair. and S. A. Sahasrabudhe. 2016. Characteristics and freezability of Gir bull semen. Indian J. Anim. Sci. 86:264-272.