

**Analisis Normalitas dan Abnormalitas Spermatozoa Sapi Friesian Holstein (*Bos taurus*) Tahap *Post Thawing Motility* pada Suhu dan Lama Waktu Berbeda Menggunakan Pengencer Andromed**

***Normality and Abnormality Analysis of the Spermatozoa of Friesian Holstein Cow (Bos taurus) on the Post Thawing Motility Stage at Temperatures and Time Differences using Andromed Diluent***

Sabilah Safitri<sup>1\*)</sup>, Hari Santoso<sup>2\*\*)</sup>, Husain Latuconsina<sup>3</sup>  
<sup>1,2,3</sup>, Jurusan Biologi FMIPA Universitas Islam Malang, Indonesia

**ABSTRAK**

Keberhasilan Inseminasi Buatan (IB) tergantung dari kualitas semen yang akan digunakan untuk teknik Inseminasi Buatan, dan kualitas semen dilihat dari normalitas dan abnormalitas spermatozoa.. Dari hasil yang didapatkan dalam penelitian ini yaitu Abnormalitas spermatozoa sapi FH untuk lama waktu thawing tidak berbeda nyata ( $P>0,05$ ), dengan nilai rata rata presentase abnormalitas tertinggi  $4,25 \pm 0,354$  didapatkan pada lama waktu 40 detik, dan rata rata nilai presentase terendah didapatkan  $1,75 \pm 0,354$  dengan lama waktu 20 detik. Lama waktu thawing terhadap normalitas spermatozoa sapi FH tidak berbeda nyata ( $P>0,05$ ), hal tersebut dapat dilihat dari nilai rata rata presentase normalitas tertinggi didapatkan  $98,3 \pm 0,354$  dengan lama waktu 20 detik. Presentase normalitas terendah didapatkan nilai rata rata presentase  $96,0 \pm 0,707$  dengan lama waktu 20 detik. Tetapi suhu yang didapatkan pada keduanya pada Abnormalitas dan Normalitas berpengaruh nyata ( $P<0,05$ ). Hal tersebut bisa dilihat hasil Abnormalitas yang tinggi di dapatkan pada Suhu  $25^{\circ}\text{C}$  dan Abnormalitas terendah didapatkan pada Suhu  $37^{\circ}\text{C}$ . Untuk Normalitas Tertinggi didapatkan pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  dan terendah didapatkan pada suhu  $25^{\circ}\text{C}$ .

**Kata Kunci :** *Inseminasi Buatan (IB), Normalitas, Abnormalitas, Spermatozoa, Sapi FH*

**ABSTRACT**

*The success of Artificial Insemination (ai) depends on the quality of cement that will be used for the technique of Artificial Insemination, and semen quality is seen from the normality and abnormality of spermatozoa.. From the results obtained in this study, namely Abnormality of spermatozoa of cattle FH for a long time thawing are not significantly different ( $P=0.05$ ), with the value of the average percentage of abnormality high of  $4.25 \pm 0.354$  obtained in the long time of 40 seconds, and the average value of the percentage of the best achieved of  $1.75 \pm 0.354$  with the time of 20 seconds. Long-time thawing against the normality of spermatozoa of cattle FH not significantly different ( $P=0.05$ ), it can be seen from the value of the average percentage of normality highest achieved  $98.3 \pm 0.354$  with the time of 20 seconds. The percentage of normality of the lowest obtained value of the average percentage to  $96.0 \pm 0.707$  with the time of 20 seconds. But the temperature obtained in the both Abnormality and Normality is significant ( $P=0.05$ ). It can be seen the results of Abnormality high in get at Temperature of  $25^{\circ}\text{C}$  and Abnormality the lowest obtained at a Temperature of  $37^{\circ}\text{C}$ . For Normality the Highest obtained at a temperature of  $37^{\circ}\text{C}$  and the lowest obtained at a temperature of  $25^{\circ}\text{C}$ .*

**Key words :** *Artificial Insemination (ai), Normality, Abnormality, Spermatozoa, Bovine FH*

<sup>\*)</sup> Sabilah Safitri, Jurusan Biologi, Jurusan Biologi FMIPA UNISMA, Jl. MT Haryono 193, Malang 65144, Telp., email: [safitribilah@gmail.com](mailto:safitribilah@gmail.com)

<sup>\*\*)</sup> Drs. Hari Santoso, M.Biomed. Jurusan Biologi, Jurusan Biologi FMIPA UNISMA, Jl. MT Haryono 193, Malang 65144, email: [harisantoso.m.biomed@gmail.com](mailto:harisantoso.m.biomed@gmail.com)

Diterima Tanggal 18 Agustus 2019 – Dipublikasikan Tanggal 25 Januari 2021

## Pendahuluan

Kualitas semen sapi pejantan mempunyai peranan yang sangat penting dalam pelaksanaan perkawinan, baik secara alami maupun Inseminasi Buatan (IB). Inseminasi buatan merupakan teknik perkawinan dengan memasukkan semen segar atau semen beku ke dalam saluran kelamin sapi betina menggunakan alat yang dibuat oleh manusia. Hal ini bertujuan untuk memperbaiki mutu genetik ternak, menghindari penyebaran penyakit kelamin dan meningkatkan jumlah keturunan dari pejantan unggul [1].

Keberhasilan Inseminasi Buatan tergantung pada kualitas semen yang diejakulasikan oleh pejantan. Kualitas semen dikatakan baik yaitu apabila semen tersebut memiliki motilitas dan viabilitas yang tinggi [2].

Ketinggian motilitas dapat dipengaruhi dengan adanya spermatozoa normal yang ada didalam semen tersebut. Ciri ciri jenis normalitas spermatozoa yaitu mempunyai kepala, leher dan ekor yang sempurna (tidak bercabang).[6] , morfologi normal pada sperma yang normal meliputi Morfologi kepala berbentuk oval bagian akrosom harus adadan menutupi 1/3 bagian kepala sperma dengan ukuran panjang kepala sperma 3-5 mikron lebar kepala sperma harus 1/2 atau 1/3 dari panjangnya kepala. Morfologi badan atau midpiece ukuran harus kurang dari 1/2 lebar kepala panjangnya 2 kali dari panjang kepalanya dan berada pada satu garis dengan sumbu kepala. Morfologi ekor atau tail harus memiliki batas jelas dan memiliki panjang sembilan kali dari panjang kepala sperma.

Pembekuan spermatozoa merupakan proses penghentian kehidupan spermatozoa secara sementara untuk mengurangi proses metabolisme hampir secara total dengan tujuan mengurangi penggunaan energi secara berlebihan. Pada proses pembekuan ini spermatozoa diencerakan terlebih dahulu salah satu bahan yang digunakan adalah gliserol, gliserol merupakan bahan pelindung (krioprotektan) yang dapat langsung masuk dan mudah diserap oleh sel sperma. [5].

Faktor frekuensi ejakulasi merupakan salah satu faktor penting yang mempengaruhi kualitas dan morfologi abnormal spermatozoa semen segar [9]. Ciri ciri dari spermatozoa abnormal [10], yaitu terdiri dari Bentuk kepala seperti buah pir, penempitan dibagian pangkal kepala, penempitan di bagian tepi kepala, kepala menegmbang besar, kepala bundar dan membesar, kepala bundar dan mengecil, kepala ganda, abaxial, akrosom cacat kepala terpisah, kepala menyerupai mahkota.

Abnormalitas spermatozoa semen segar melebihi 20% dapat menurunkan fertilitas[11]. Pengujian morfologi abnormal spermatozoa sapi penting dilakukan untuk mendukung keberhasilan program IB, karena jika tidak dilakukan maka dikhawatirkan semen cairataupun semen beku dengan tingkat abnormalitas yang tinggi akan didistribusikan dan diinseminasikan sehingga dapat mengurangi keberhasilan program IB

Setelah melalui proses pembekuan pada spermatozoa maka tahap selanjutnya yaitu tahap *Post Thawing Motility* (PTM). Tahap ini bertujuan untuk melihat motilitas spermatozoa kembali setelah dilakukan proses pembekuan sebelum di distribusikan. Tahap post thawing motility ini yaitu mencairkan kembali semen yang telah dibekukan dengan suhu air yang hangat sehingga sel spermatozoa dapat kembali bergerak aktif kembali. Dari penelitian ini sel spermatozoa di thawing dengan suhu yang beragam dengan tujuan untuk mengetahui suhu berapa yang optimal untuk dijadikan thawing semen yang telah dibekukan .

## Material dan Metode

### Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah semen segar, straw semen beku, air hangat dengan suhu (25°C, 37°C, 40°C), Pewarna Eosin, NaCl fisiologis. Alat digunakan sebagai berikut: CASA IVOS II, Mikroskop, Objek glass, Cover glass, Mikropipet, Pinset, Tip, Vortex mixer, Mikroskop dan monitor, Gunting, Handuk, Water bath, Slide warmer, Termometer, Goblet, Termos.

### Metode

Pada penelitian ini adalah eksperimen menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) yang mana kelompok yang digunakan yaitu dari kelompok suhu ada 3 suhu yang digunakan didalam

penelitian ini yaitu suhu 25°C, 37°C, dan 40°C hal ini dapat dijadikan sebagai kelompok dan suhu 37°C ini menjadi kontrol dari ketiga perlakuan tersebut. Pada RAK ini kita tidak ada pengulangan karena disetiap perlakuan dengan suhu dan lama waktu thawing pada straw semen beku sudah dilakukan duplo pada setiap sampelnya.

### Cara Kerja

Proses penampungan semen dilakukan pada pagi hari, dibawa ke laboratorium untuk diperiksa secara mikroskopis dan makroskopis. Pengenceran semen dilakukan dengan pengencer komersial Andromed dan dilakukan tahap *per freezing* dan *freezing*. Tahap selanjutnya adalah *post thawing motility* dengan suhu yang berbeda. Preparat dibuat dari semen yang sudah dilakukan *thawing* untuk di periksa di mikroskop. Dihitung jumlah semen normal dan abnormal. Sampel yang digunakan yaitu semen beku sapi FH sebanyak 9 straw (setiap perlakuan ada 3 straw yang digunakan ) kemudian straw yang sudah didapat maka diberi perlakuan Post Thawing terlebih dahulu kemudian dihitung persentase normalitas dan abnormalitas sesuai rumus yang telah ditentukan.

### Hasil dan Diskusi

Pada Tabel.1 dapat dijelaskan bahwa P yang didapatkan Pada perlakuan suhu yaitu  $P < 0,05$ , Sedangkan pada waktu dan keduanya ini tidak berbeda nyata  $P > 0,05$ . Maka Perlakuan pada suhu tersebut harus diuji lanjut dengan menggunakan POST-HOC Test yang dapat dilihat pada tabel dibawah.

Pada Tabel.2 menunjukkan bahwa suhu 25°C dan 37°C hasil yang didapatkan berbeda nyata karena **Ptukey < 0,05**. Begitupula suhu 25°C dan 40°C p tukey yang didapatkan **Ptukey < 0,05** sedangkan suhu 37°C dan 40°C ini p tukey yang didapatkan **Ptukey > 0,05** maka dianggap suhu 37°C dan 40°C ini tidak berbeda nyata. Hal tersebut dapat dijelaskan bahwa suhu anantara 25°C ke 37°C maupun suhu 25°C ke 40°C ini ada perbedaan yang sangat signifikan karena suhu yang dipakai memang berbeda karena sesungguhnya air 25°C merupakan air yang dikategorikan dingin sehingga ada perbedaan nyata di suhu 25°C dan 37°C ini, begitupula suhu 25°C dan 40°C bahwa kategori air suhu 25°C itu merupakan kategori suhu yang dingin, dan suhu 40°C merupakan suhu air dalam kategori hangat cenderung panas, maka dari kedua suhu ada perbedaan yang nyata antara kedua suhu. Perhitungan statistik Ptukey yang didapatkan pada suhu 37°C dan 40°C ini tidak berbeda nyata karena dari kedua suhu tersebut (37°C dan 40°C) ini dikategorikan air yang tergolong sama hangatnya dibandingkan suhu 25°C ke 37°C dan suhu 25°C ke suhu 40°C sehingga perbedaan suhu 37°C dan 40°C ini tidak berbeda nyata secara signifikan karena suhu tersebut dikategorikan sama sama mempunyai suhu yang dikategorikan hangat untuk dilakukan proses post thawing.

Dari penjelasan diatas Air yang digunakan untuk thawing sebaiknya air yang hangat kategori tidak terlalu dingin dan juga tidak terlalu panas, suhu yang layak untuk thawing adalah suhu 37°C. Hal tersebut dapat diperkuat oleh penelitin [7] yang menyatakan bahwa teknik pemeriksaan motilitas spermatozoa yang paling efektif suhunya untuk melakukan thawing adalah suhu antara 37°C-38°C, Karena pada suhu tersebut motilitas yang didapatkan lebih baik dibandingkan pemeriksaan thawing dengan suhu yang berada dibawah suhu 37°C-38°C.

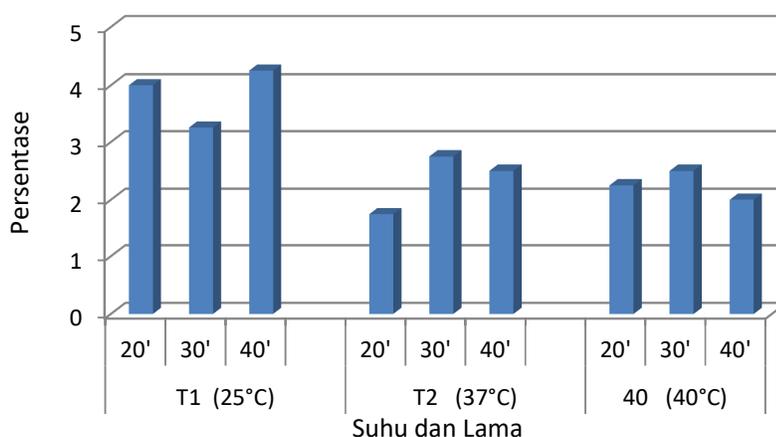
Tabel 1. Data Hasil Analisis Abnormalitas Spermatozoa

	Jumlah Kuadrat	db	Kuadrat Tengah	F	P
Suhu	9,528	2	4,7639	16,333	0,001
Waktu	0,194	2	0,0972	0,333	0,725
Suhu & Waktu	2,222	4	0,5556	1,905	0,194
Residuals	2,625	9	0,2917		

Keterangan : P = Probabilitas

Tabel. 2 Data Hasil POST-HOC Test Abnormalitas Spermatozoa Pada Suhu

Perbandingan ( °C)							
Suhu	Suhu	Perbedaan Nilai Tengah	SE	db	t	P <sub>tukey</sub>	
25	- 37	1.5000	0.312	9	4.811	0.002	
	- 40	1.5833	0.312	9	5.078	0.002	
37	- 40	0.0833	0.312	9	0.267	0.962	



Gambar 1. Hasil Rata rata Abnormalitas Spermatozoa Sapi FH

Tabel 3. Data Hasil Analisis Normalitas Spermatozoa

	Jumlah Kuadrat	db	Kuadrat Tengah	F	P
<b>Suhu</b>	9,528	2	4,7639	16.333	0,001
<b>Waktu</b>	0,194	2	0,0972	0,333	0,725
<b>Suhu &amp; Waktu</b>	2,222	4	0,5556	1,905	0,194
<b>Residuals</b>	2,625	9	0,2917		

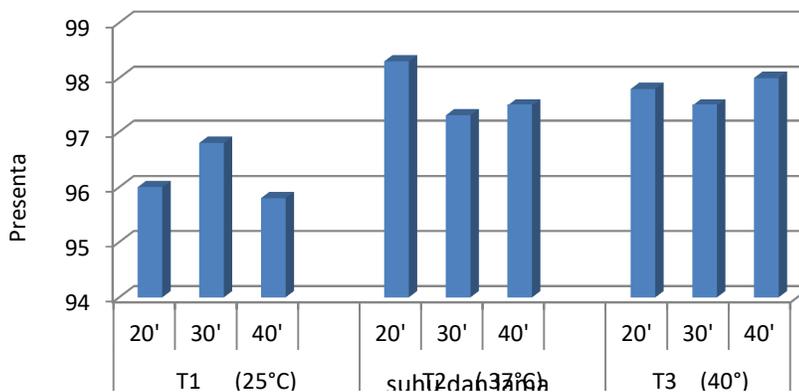
Pada Tabel.3 dapat dilihat bahwa P yang didapatkan pada Suhu yaitu  $P < 0,05$  Hal tersebut harus dilakukan uji lanjutan berupa uji POST-HOC dengan metode Tukey, Tabel analisis dengan POST-HOC dengan Metode Tukey dapat dilihat pada Tabel.3 Hal tersebut sama seperti penelitian yang dilakukan oleh (Susilawati dan Wahyu ningsih, 2013) [8] bahwa suhu merupakan hal yang berpengaruh terhadap thawing karena suhu merupakan point utama untuk mengembalikan daya gerak dan metabolisme sel untuk bisa dilihat motilitasnya kembali setelah proses pembekuan. Sehingga suhu yang tidak sesuai dengan metabolisme yang dibutuhkan oleh sel akan terjadi kerusakan sel dan menurunkan nilai motilitasnya.

Pada data awal didapatkan bahwa Abnormalitas yang cenderung banyak didapatkan pada suhu 25°C karena suhu tersebut merupakan air yang dikategorikan suhu yang masih dingin maka sel spermatozoa tersebut mengalami *cold shock* dan masih membeku sehingga sel spermatozoa tersebut

yang tidak survive maka mengalami kerusakan pada morfologi sel spermatozoa tersebut, ada juga sel tersebut mengalami abnormalitas primer yang mana sel spermatozoa tersebut sudah mengalami abnormalitas pada proses spermatogenesis dan juga dapat dikarenakan terjadi karena sel tersebut rusak sejak berada didalam testis.

Tabel 4. Data Hasil POST-HOC Test Normalitas Spermatozoa Pada Suhu

Perbandingan ( °C)						
Suhu	Suhu	Perbedaan Nilai Tengah	SE	db	t	Ptukey
25	37	-1.5000	0.312	9	-4.811	0.002
	40	-1.5833	0.312	9	- 5.078	0.002
37	40	-0.0833	0.312	9	-0.267	0.962



Gambar 2. Rata rata Normalitas Spermatozoa Sapi FH

Pada Tabel.4 Menunjukkan bahwa suhu Pada tabel diatas menunjukkan bahwa suhu 25°C dan 37°C hasil yang didapatkan berbeda nyata karena **Ptukey < 0,05**. Begitupula suhu 25°C dan 40°C p tukey yang didapatkan **Ptukey < 0,05** sedangkan suhu 37°C dan 40°C ini p tukey yang didapatkan **Ptukey > 0,05** maka dianggap suhu 37°C dan 40°C ini tidak berbeda nyata. Hal tersebut dapat dijelaskan bahwa suhu antara 25°C ke 37°C maupun suhu 25°C ke 40°C ini ada perbedaan yang sangat signifikan karena suhu yang dipakai memang berbeda karena sesungguhnya air 25°C merupakan air yang dikategorikan dingin sehingga ada perbedaan nyata di suhu 25°C dan 37°C ini, begitupula suhu 25°C dan 40°C bahwa kategori air suhu 25°C itu merupakan kategori suhu yang dingin, dan suhu 40°C merupakan suhu air dalam kategori hangat cenderung panas, maka dari kedua suhu ada perbedaan yang nyata antara kedua suhu. Perhitungan statistik P tukey yang didapatkan pada suhu 37°C dan 40°C ini tidak berbeda nyata karena dari kedua suhu tersebut (37°C dan 40°C) ini dikategorikan air yang tergolong sama hangatnnya dibandingkan suhu 25°C ke 37°C dan suhu 25°C ke suhu 40°C sehingga perbedaan suhu 37°C dan 40°C ini tidak berbeda nyata secara signifikan karena suhu tersebut dikategorikan sama sama mempunyai suhu yang dikategorikan hangat untuk dilakukan proses post thawing. Karena proses thawing yang benar menggunakan suhu yang hangat dan disesuaikan dengan daya hidup kembali dan metabolisme sel yang bagus harus diberikan thawing dengan suhu yang stabil supaya tidak mengalami *cold shock* setelah proses pembekuan.

## Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa suhu yang paling optimal untuk digunakan thawing adalah suhu 37°C dengan lama waktu thawing 30 detik. Jika suhu yang digunakan untuk thawing semakin tinggi maka abnormalitas yang didapatkan akan semakin rendah, dan normalitas spermatozoa semakin tinggi, begitu pula jika suhu yang digunakan untuk thawing semakin rendah maka abnormalitas yang didapatkan semakin tinggi dan normalitas dari spermatozoa tersebut menurun.

## Daftar Pustaka

- [1] Feradis.2010. *Bioteknologi Reproduksi Pada Ternak*. Alfabeta, Bandung.
- [2] Hafez, B and Hafez, E.S.E 2000. *Reproduction In Farm Animals* 7<sup>th</sup> edition Lippincot Williams and Willkins Philladelphia.
- [3] Khairi.F. 2016. Evaluasi Produksi Dan Kualitas Semen Sapi Simmental Terhadap Tingkat Bobot Berbeda. *Jurnal Peternakan* Vol.13 No.2 ISSN 1829-8729.
- [4] Komar, B. S., Lestari, D. T. dan Prasakti, R. 2012. Hubungan Antara Bobot Badan dengan Performan Reproduksi Kambing Kosta. Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran. Bandung.
- [5] Mumu, M.I. 2009. Viabilitas Semen Sapi Simmental Yang dibekukan Menggunakan Krioprotektal Gliserol. Skripsi. Universitas Tadulako. Sulawesi Tengah.
- [6] Nugraha,Y. 2018. *Morfologi sperma Normal Dan Abnormal Teratozoospermia*. Klinik Holistik Elif Medika.
- [7] Senger,P.L (2003) *Reproductive Cyclicity Terminology and Basic Concepts*. In Pathways to Pregnancy and Parturition. Second Revised Edition. Current Conceptions, Inc. Washington State University, Washington, USA.
- [8] Susilawati, T. 2011a. Tingkat Keberhasilan Inseminasi Buatan dengan Kualitas dan Deposisi Semen yang Berbeda pada Sapi Peranakan Ongole. *Jurnal Ternak Tropika*. 12 (2): 15-24.
- [9] Tambing, S.N., I.K. Sutamadan .R.I. Arifianti. 2003. Eektivitas Berbagai Konsentrasi Laktosa dalam pengenceran tris terhadap viabilitas sperma cair kambing saneen. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*. 8 (2): 84-90.
- [10] Turner, M.R. 1981. *The Tropical Adaption Of Beef Cattle. An Australian Study In: Animal Breeding: Selected Articles From The Word Anim. Rev.* FAO Animal Production and Health paper 1;92-97.
- [11] Toelihere. M. R. 1993. *Fisiologi Reproduksi Pada Ternak*. Cetakankedua.Angkasa, Bandung.
- [12] Tomaszewska, M., Sutama, W., Gede Putu I., I.K.,dan Chinago,T. D. 1991. *Reproduksi, Tingkah Laku dan Produksi Ternak di Indonesia*. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- [13] Warwick, E.J, Astuti, J. M. dan Hardjosubroto, W. 1990. *Pemuliaan Ternak*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.