

Kualitas Semen Beku Selama Penyimpanan di Satuan Pelayanan Inseminasi Buatan Mengwi, Kabupaten Badung

*(THE QUALITY OF FROZEN SEMEN DURING STORAGE IN THE MENGWI ARTIFICIAL
INSEMINATION SERVICE UNIT, BADUNG REGENCY)*

Ni Komang Asni^{1*}, I Wayan Bebas², I Gusti Ngurah Bagus Trilaksana²

¹UPT Sentra Pembibitan Sapi Bali, Kecamatan Mengwi, Kabupaten Badung, Bali 80352;

²Laboratorium Reproduksi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, Jl.
PB. Sudirman Denpasar, Bali.

*Email: *komangasni80@gmail.com*

Abstrak

Keberhasilan Inseminasi Buatan di Kabupaten Badung belum maksimal, ini terlihat dari banyaknya kejadian kawin berulang. Salah satu faktor penting dalam keberhasilan Inseminasi Buatan adalah kualitas dari semen beku yang digunakan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kualitas semen beku sapi bali yang disimpan dalam waktu yang berbeda di depo penyimpanan Satuan Pelayanan Inseminasi Buatan (SPIB) Mengwi, Kabupaten Badung. Penelitian ini menggunakan semen beku sapi bali dari Balai Inseminasi Buatan Daerah Baturiti. Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dengan empat perlakuan yaitu perlakuan sesaat setelah sampai di depo penyimpanan (P1), waktu penyimpanan tujuh hari (P2), 14 hari (P3) dan 28 hari (P4). Dan masing-masing perlakuan terdiri dari lima ulangan. Peubah yang diamati adalah persentase viabilitas, persentase motilitas dan persentase membran plasma utuh. Hasil penelitian didapat bahwa semen beku yang disimpan di depo penyimpanan SPIB Mengwi tidak berbeda bermakna ($P > 0,05$) untuk waktu penyimpanan P1, P2 dan P3 tetapi berbeda bermakna untuk penyimpanan 28 hari (P4) ($P < 0,05$) dengan persentase rata-rata viabilitas 54.06% sampai dengan 61.21%, persentase motilitasnya 41.39% sampai dengan 46.44% dan persentase membran plasma utuh diperoleh 50.53% sampai dengan 57.14%. Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kualitas spermatozoa semen beku baik dilihat dari viabilitas, motilitas maupun membran plasma utuhnya mengalami penurunan secara nyata pada hari ke-28.

Kata kunci: Inseminasi buatan; kualitas semen beku; semen beku; waktu penyimpanan

Abstract

The success of artificial insemination in Badung Regency has not been maximized, this can be seen from the number of recurrent mating events. One important factor in the success of artificial insemination is the quality of the frozen semen used. This study aims to determine the quality of frozen semen of Bali cattle stored at different times in the storage depot of the Mengwi Artificial Insemination Service Unit (SPIB), Badung Regency. This study uses frozen bali cattle semen from the Baturiti Regional Artificial Insemination Center. The design used is a completely randomized design with four treatments, namely treatment shortly after arriving at the storage depot (P1), seven days storage time (P2), 14 days (P3) and 28 days (P4). And each treatment consisted of five replications. The observed variables are the percentage of viability, percentage of motility and percentage of intact plasma membrane. The results showed that frozen semen stored in the Mengwi SPIB storage depot was not significantly different ($P > 0.05$) for storage times P1, P2 and P3 but significantly different for storage of 28 days (P4) ($P < 0.05$) with a percentage the average viability of 54.06% up to 61.21%, the percentage of motility 41.39% up to 46.44% and the percentage of the integrity of plasma membrane obtained from 50.53% up to 57.14%. The results of this study can be concluded that the quality of frozen semen spermatozoa both in terms of viability, motility and integrity of plasma membrane decreased significantly on the 28th day.

Keywords: Artificial insemination; frozen semen; quality of frozen semen; storage time

PENDAHULUAN

Ketahanan pangan adalah program yang sering diwacanakan oleh pemerintah saat ini. Salah satu program dalam masalah ketahanan pangan adalah Upaya Khusus Sapi Induk Wajib Bunting (Upsus SIWAB) yang bertujuan untuk meningkatkan populasi dan produktifitas ternak sapi dan kerbau. Peningkatan produktivitas sapi potong perlu didukung teknologi reproduksi terutama yang berhubungan dengan efisiensi dari manajemen reproduksi (Wulan *et al.*, 2005).

Inseminasi buatan (IB) merupakan salah satu teknologi reproduksi yang dapat meningkatkan mutu genetic, menghindari *inbreeding* dan penularan penyakit veneral (Hafez, 2000; Juhani, 2009). Teknologi reproduksi IB sudah lama diperkenalkan dan diterapkan yaitu sekitar tahun lima puluhan pada peternakan sapi di Indonesia (Wulan *et al.*, 2005). Meskipun telah lama diperkenalkan, namun IB belum memberikan hasil maksimal di beberapa wilayah. Faktor-faktor utama yang mempengaruhi keberhasilan IB ialah mutu semen beku, reproduksi ternak betina, ketepatan dan pelaporan deteksi birahi, keterampilan petugas serta prasarana dan sarana pendukung lainnya. Mutu semen beku sapi yang memenuhi standar harus didukung oleh penanganan yang baik dan benar agar mutu semen beku tersebut dapat dipertahankan sehingga siap untuk diinseminasikan (SNI 01.4869. 1-2007).

Salah satu faktor penting IB adalah kualitas semen beku yang digunakan harus berkualitas baik, maka sebelum semen beku digunakan pada IB harus diperiksa terlebih dahulu kualitas dan kuantitasnya. Evaluasi semen merupakan suatu tindakan yang perlu dilakukan untuk melihat kuantitas (jumlah) dan kualitasnya. Pemeriksaan semen dibagi menjadi dua kelompok, yaitu pemeriksaan secara makroskopik dan pemeriksaan mikroskopik. Pemeriksaan makroskopik yaitu pemeriksaan semen secara garis besar tanpa memerlukan alat bantu yang rumit, yang meliputi

pemeriksaan volume, konsistensi, bau dan warna, sedangkan pemeriksaan mikroskopik bertujuan melihat kondisi semen lebih dalam lagi serta memerlukan alat bantu yang cukup lengkap, meliputi pemeriksaan motilitas, viabilitas dan kualitas membran plasma utuh spermatozoa. Kualitas semen selama penyimpanan dan perlakuan semen beku sebelum diaplikasikan sangat berpengaruh terhadap keberhasilan IB.

Di Kabupaten Badung keberhasilan IB belum maksimal terutama banyaknya kejadian kawin berulang yaitu sebanyak 640 ekor dari total pelayanan IB pada bulan Januari sampai September 2019 sebesar 5207 ekor (Dirjen Peternakan dan Kesehatan Hewan, 2019). Dari data tersebut kejadian kawin berulang masih tinggi padahal dari segi petugas IB sudah sering dilakukan pelatihan untuk meningkatkan ketrampilan dalam pelaksanaan IB. Dari segi peternak sudah sering dilakukan pembinaan dalam hal pengamatan terhadap ternak mereka yang mengalami tanda-tanda birahi dan kapan saat yang tepat untuk melakukan IB.

Sampai saat ini, belum ada penelitian mengenai pemeriksaan kualitas spermatozoa semen beku yang telah didistribusikan di depo penyimpanan semen beku di Satuan Pelayanan Inseminasi Buatan Mengwi, Kabupaten Badung. Dengan pemeriksaan tersebut dapat diketahui kualitas spermatozoa semen beku yaitu persentase viabilitas, motilitas dan membrane plasma utuh selama disimpan di SPIB Mengwi.

METODE PENELITIAN

Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian experimental studi, menggunakan rancangan acak lengkap dengan empat perlakuan dan lima kali ulangan. Perlakuan pertama (P1) kualitas semen beku sesaat setelah sampai di depo penyimpanan SPIB Mengwi, perlakuan kedua (P2) 7 hari penyimpanan, perlakuan ketiga (P3) 14 hari

penyimpanan dan perlakuan keempat (P4) 28 hari penyimpanan di depo penyimpanan SPIB Mengwi. Penelitian dilaksanakan di SPIB Kecamatan Mengwi, Kabupaten Badung. Penelitian dilaksanakan pada September-Oktober 2019.

Prosedur Penelitian

Semen beku yang akan diperiksa kualitas spermanya *dithawing* terlebih dahulu, tujuannya adalah mencairkan semen yang beku dalam *straw*. Metode thawing antara lain; Ambil satu *straw* dari dalam kontainer penyimpanan; Masukkan secara perlahan ke dalam air dengan suhu 35-37° C selama 15- 30 detik; *Straw* kemudian diambil dan semen dikeluarkan siap untuk diperiksa.

Pemeriksaan Presentase Hidup (Viabilitas)

Sebanyak 10 µL semen diletakkan pada gelas objek, ditambah pewarna eosin-nigrosin 50 µL, dihomogenkan dan dibuat preparat ulas serta dikeringkan di atas meja penghangat selama 15-20 detik. Preparat diamati di bawah mikroskop cahaya menggunakan perbesaran 400x. Spermatozoa yang hidup tidak menyerap warna (transparan) dan spermatozoa yang mati akan menyerap warna merah atau merah muda. Spermatozoa yang hidup dan mati dihitung dalam 10 lapang pandang (Priyanto *et al.*, 2015).

Pemeriksaan motilitas

Sebanyak 10 µL semen diambil menggunakan mikropipet diteteskan pada gelas objek dan ditambah NaCl fisiologi dengan perbandingan 1:4. Campuran tersebut dihomogenkan kemudian diambil satu tetes campuran larutan dan dipindahkan ke gelas objek lain kemudian ditutup gelas penutup. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop (Olympus CH 20) dengan perbesaran 400x pada 10 lapang pandang. Penilaian diberikan dalam kisaran 0-100% dengan skala 5% (Priyanto *et al.*, 2015).

Pemeriksaan Membran Plasma Utuh (MPU)

Sebanyak 50 µl semen dimasukkan ke dalam 400 µl larutan *Hypoosmotic Swelling Test* (HOS) bertekanan 150 mOsm kg⁻¹ H₂O yang terdiri atas 0.735 gr Na sitrat dan 1.351 gr Fruktosa dalam 100 ml aquadest (Revell dan Mrode, 1993). Campuran larutan diinkubasi dalam *water bath* (37°C). Spermatozoa dalam larutan HOS diamati pada menit ke 30-45 (Hardyana dan Arifiantini, 2012). Pemeriksaan dilakukan dengan mikroskop perbesaran 400x pada sepuluh lapang pandang. Spermatozoa dengan membran plasma utuh akan memperlihatkan ekor yang melingkar (*coil*), sedangkan spermatozoa dengan membran plasma yang tidak utuh akan memperlihatkan ekor yang lurus.

Analisis Data

Data yang diperoleh ditabulasi dan dianalisis secara statistik dengan General Linear Model (GLM). Bila terdapat perbedaan dilakukan dengan uji lanjutan Ducan. Analisis dilakukan dengan softwear SPSS 17 *for windows*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Persentase Hidup (Viabilitas) Spermatozoa Semen Beku Sapi Bali

Viabilitas spermatozoa diamati dengan pewarnaan eosin nigrosin. Dapat dilihat pada Gambar 1. Rata-rata viabilitas spermatozoa semen beku dengan waktu penyimpanan berbeda adalah 54.06% sampai dengan 61.21% (Tabel 1).

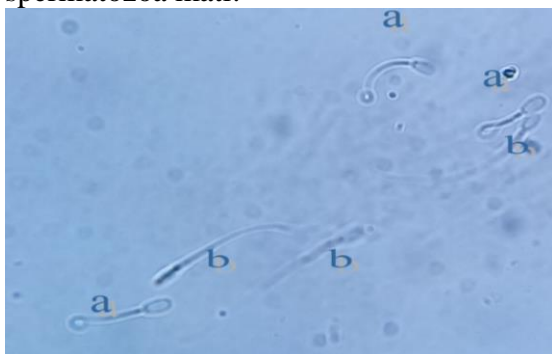
Persentase Motilitas Spermatozoa Semen Beku Sapi Bali

Motilitas spermatozoa semen beku sapi bali selama disimpan di SPIB Mengwi pada penelitian ini memiliki nilai motilitas 41.39% sampai dengan 46.44% (Tabel 5.1). Secara keseluruhan, semen beku ini dapat diinseminasikan karena nilai motilitasnya telah melampaui standar produksi semen

beku Indonesia yang tertuang dalam SNI 01-4869.1-2007, yaitu semen beku sesudah dicairkan kembali (*post thawing*) harus menunjukkan motilitas spermatozoa minimum 40%. Hasil analisa menggunakan uji *Duncan* didapat data rata-rata motilitas spermatozoa semen beku waktu penyimpanan P1, P2 dan P3 menunjukkan perbedaan tidak bermakna ($P>0,05$). Sedangkan pada waktu penyimpanan P4 menunjukkan perbedaan bermakna ($P<0,05$).



Gambar 1. a. spermatozoa hidup; b. spermatozoa mati.



Gambar 2. a. (ekor melingkar) spermatozoa dengan membran plasma utuh; b. (ekor lurus) spermatozoa dengan membran plasma tidak utuh.

Membran Plasma Utuh Spermatozoa Semen Beku Sapi Bali

Evaluasi dilakukan terhadap keutuhan membran plasma spermatozoa. Integritas membran plasma adalah suatu keadaan yang menunjukkan fungsi fisiologis membran yang terjaga sebagai kontrol terhadap transport air sehingga cairan di luar sel tidak dapat memasuki sel. Spermatozoa yang memiliki membran plasma yang utuh digambarkan dengan keadaan ekor spermatozoa yang melingkar,

sedangkan spermatozoa yang mengalami ketidakutuhan membran plasma keadaan ekornya akan lurus (Gambar 2).

Pembahasan

Pada penelitian ini terjadi penurunan viabilitas spermatozoa semen beku yang disimpan dengan waktu penyimpanan yang berbeda di depo penyimpanan depo SPIB Mengwi. Pada semua sampel semen beku yang diperiksa pada penelitian ini pada waktu penyimpanan P1, P2 dan P3 menunjukkan ada perbedaan bermakna ($P<0,05$) dengan semen beku yang disimpan pada P4. Hal ini sesuai dengan pendapat (Lessard *et al.*, 2000) penurunan kualitas semen beku sangat tinggi sekitar 50% spermatozoa akan mati selama pembekuan dan spermatozoa yang bertahan hidup umumnya mempunyai fertilitas yang rendah. Kerusakan yang terjadi *post thawing* dapat disebabkan karena kenaikan suhu yang menimbulkan denaturasi protein spermatozoa. Apabila membran plasma spermatozoa sudah mengalami kerusakan, maka metabolisme spermatozoa akan terganggu sehingga spermatozoa mulai kehilangan motilitasnya dan kemampuan spermatozoa untuk fertilisasi karena lepasnya komponen seluler dan inaktivasi protein-protein enzim penting di dalam akrosom. Kejadian ini mengakibatkan kematian spermatozoa yang berdampak pada menurunnya viabilitas spermatozoa (Yulnawati dan Agus 2005).

Hal yang sama juga dilaporkan oleh Sitepu dan Dharsana (1998) yang menyatakan bahwa terjadi penurunan motilitas semen beku setelah disimpan pada pos IB selama 3 minggu, penurunan tersebut sampai sebesar 55 % untuk semen beku sapi Ongole dan 34 % untuk sapi Brahman. Perbedaan ini disebabkan oleh pemindahan semen beku antar kontainer, dan selama penyimpanan di depo terjadi pengambilan semen beku yang dilakukan oleh beberapa petugas IB dilapangan, pengambilan semen beku dalam *straw* terjadi penguapan N2 cair dan sedikit peningkatan suhu sehingga mempengaruhi

kualitas spermatozoa semen beku tersebut. Maksum *et al.* (1993) juga menjelaskan bahwa angka persentase motilitas yang menurun kemungkinan besar diakibatkan oleh pemindahan semen beku dari kontainer yang satu ke kontainer berikutnya untuk setiap jalur distribusi. Selama proses pemindahan akan terjadi perubahan suhu lingkungan yang mengakibatkan terjadinya *cold shock*.

Motilitas merupakan gerakan individual progresif ke depan yang dinilai segera setelah penampungan dan dapat dijadikan sebagai ukuran kemampuan membuahi. Motilitas semen beku dari semua perlakuan di dapatkan motilitas 41.39% sampai 46.44%, ini termasuk motilitas semen beku sesuai standar dengan nilai sedang yaitu 40% sampai 50% (Feradis, 2010). Hal ini sesuai dengan Toelihere (1993) besaran persentase motilitas individu sapi yang normal (fertile) mempunyai motilitas individu 40% sampai 75% spermatozoa yang aktif progresif. Motilitas spermatozoa dibawah 40% menunjukkan nilai semen yang kurang baik dan berhubungan dengan infertilitas. Selain itu faktor lain yang mempengaruhi motilitas semen beku yaitu mulai dari proses pengolahan, penyimpanan dalam kontainer, dan distribusi semen beku itu sendiri.

Kualitas MPU spermatozoa semen beku sapi bali pada penelitian ini masih cukup baik, yaitu antara 50.53% sampai dengan 57.14% (Tabel 1). Hasil analisis dengan menggunakan uji *Duncan* ditemukan bahwa rata-rata MPU spermatozoa semen beku waktu penyimpanan P1, P2 dan P3 di depo penyimpanan SPIB Mengwi menunjukkan perbedaan tidak bermakna ($P>0,05$). Berbeda dengan waktu penyimpanan P4 menunjukkan perbedaan bermakna ($P<0,05$). Sama halnya yang dilaporkan oleh Irpansyah Batubara, (2002) mendapat hasil kualitas MPU semen beku yang baru didistribusikan dari BIB adalah 67,65 % tetapi mengalami penurunan kualitas MPU menjadi 43,20 % setelah sampai di pos IB. Hal ini membuktikan

bahwa penurunan kualitas semen beku dapat terjadi selama proses pendistribusian dan penyimpanan akibat terjadinya serangkaian perlakuan terhadap semen beku berupa pengambilan berulang oleh petugas IB, *handling* dan keadaan N2 Cair.

Keutuhan membran plasma bagi spermatozoa mutlak diperlukan untuk memenuhi fungsinya sebagai pelindung organel di dalam sel dan penyaring bagi pertukaran zat intraseluler dan ekstraseluler. Integritas membran plasma merupakan prasyarat bagi kelangsungan hidup spermatozoa (Sharma *et al.*, 2012). Jika membran plasma sudah terganggu atau rusak maka akan mengakibatkan kondisi anisosmotik yang menjadi penyebab terjadinya kebocoran intraseluler diantaranya akan mempengaruhi perombakan ATP sehingga mempengaruhi motilitas spermatozoa (Bohlooli *et al.*, 2012). Keutuhan membran plasma spermatozoa dapat rusak jika keberadaan zat yang bersifat toksik baik yang berasal dari spermatozoa yang telah mati maupun yang berasal dari zat yang terkandung dari pengencer yang telah mengalami oksidasi akibat penyimpanan dapat menyebabkan tingginya kadar radikal bebas.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa kualitas spermatozoa semen beku (viabilitas, motilitas, MPU) produksi BIB Baturiti terjadi penurunan setelah perlakuan penyimpanan selama 28 hari di SPIB Mengwi. Tetapi penurunan kualitas yang terjadi masih diatas standar SNI.

Saran

Untuk menjaga kualitas semen beku tetap baik perlu diperhatikan yaitu memperketat pelaksanaan SOP pengambilan semen beku oleh petugas IB.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada para Dosen Reproduksi Veteriner

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana dan Kepala UPT Sentra Ternak Sobangan, atas ijin dan dukungannya sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Standarisasi Nasional (BSN). 2017. SNI 4869-1:2017. Semen Beku-Bagian 1: Sapi. Badan Standarisasi Nasional. Jakarta.
- Bohlooli S, Cedden F, Bozoglu S, Razzaghzadeh S, Pishjang J. 2012. Correlation between conventional sperm assay parameters in cryopreserved Ram Semen. *Ann. Biol. Res.* 3: 884-889.
- Dirjen Peternakan dan Kesehatan Hewan. 2009. Sistem Informasi Kesehatan Hewan (iSIKHNAS). Jakarta
- Feradis. 2010. Bioteknologi Reproduksi Pada Ternak. Bandung: Alfa beta
- Hafez ESE. 2000. *Artificial Insemination*. Bellin., M. E., Hafez. B., Verner., D. D., Love., CC et al in *Reproduction in Farm Animals*. 7th Ed. Philadelphia, USA.
- Hardyana RD, Arifiantini RI. 2012. Penentuan waktu optimal pengujian keutuhan membran plasma spermatozoa semen beku sapi limousin dan frisien holstein menggunakan hypo-osmotic swelling (HOS) test. Skripsi. Program Studi Sarjana Institut Pertanian Bogor.
- Irpansyah B. 2002. Pengkajian teknik penanganan dan kualitas semen beku sapi produksi balai inseminasi buatan Lembang-Singosari pada setiap tahap jalur distribusi di Indonesia. Program Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Juhani T. 2009. Fixed-time artificial insemination in beef cattle. *J. Acta Vet. Scandinavica*: 51: 48.
- Priyanto L, Arifiantini RI, Yusuf TL. 2015. Deteksi kerusakan DNA spermatozoa semen segar dan semen beku sapi menggunakan pewarnaan *Toluidine Blue*. *J. Vet.*
- Lessard C, Parent S, Leclerc P, Bailey JL, Sullivan R. 2000. Cryopreservation alters the levels of the bull sperm surface protein P25b. *J. Androl.* 21: 700-707.
- Maksum K, Yusran MA, Musaofie A, Affandhy L. 1993. Kualitas semen beku sapi Madura dalam distribusinya di Pulau Madura. *Proc. Pertemuan Bemba-hasan hasil penelitian seleksi sapi Madura guna meningkatkan mutu sapi Madura*. Sub. Balai Penelitian Ternak Grati. Proyek Pembangunan Penelitian Per-tanian Nasional. Malang. Pp. 43-48.
- Revell SG, Mrode RA. 1993. An osmotic resistance test for bovine semen. *Anim. Reprod. Sci.* 36: 77-86.
- Sharma M, Singh M, Kapoor S, Jasial S. 2012. Inter relationship between some routine semen evaluation parameters in Jersey X local hill cattle crossbred bulls. *Open. Vet. J.* 2: 26-31.
- Sitepu P, Dharsana R. 1998. Aplikasi inseminasi buatan (IB) di Propinsi Lampung: penanganan dan penyimpanan frozen semen. *Proc. Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner*. 2: 317-328.
- Toelihere MR. 1993. *Inseminasi Buatan pada Ternak*. Angkasa, Bandung.
- Wulan CP, Affandhy L, Pamungkas D. 2005. Observasi kualitas spermatozoa pejantan simmental dan po dalam straw dingin setelah penyimpanan 7 hari pada suhu 5 C. *Proc. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*.
- Yulnawati, Agus SM. 2005. Motilitas dan keutuhan membran plasma spermatozoa epididimis kucing selama penyimpanan pada suhu 4°C. *Med. Ked. Hewan*. 21(3): 100-104.

Tabel 1. Rata-rata Viabilitas, Motilitas dan MPU Spermatozoa Semen Beku Sapi Bali dengan Waktu Penyimpanan Berbeda

Perlakuan	Viabilitas (%)	Motilitas (%)	MPU(%)
	Rata-rata (x ± SD)	Rata-rata (x ± SD)	Rata-rata (x ± SD)
P1	61.21 ± 1.73 a	46.44 ± 0.79 a	57.14 ± 3.99 a
P2	61.02 ± 1.58 a	46.04 ± 1.27 a	57.40 ± 2.65 a
P3	59.21 ± 1.79 a	45.28 ± 1.73 a	55.49 ± 1.41 a
P4	54.06 ± 4.14 b	41.39 ± 1.33 b	50.53 ± 1.37 b

Keterangan: Superskrip huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda bermakna ($P < 0,05$)