

Analisis Komparatif Kualitas Semen Beku yang Telah dan Belum Bersertifikasi Standar Nasional Indonesia

*(COMPARATIVE ANALYZIS OF QUALITY SNI CERTIFIED
AND NON SNI CERTIFIED FROZEN SEMEN)*

**Eva Handayani¹, Iman Supriatna²,
Ligaya ITA Tumbelaka², Ekayanti M Kaiin³**

¹Program Studi Biologi Reproduksi, Sekolah Pascasarjana;

² Divisi Reproduksi dan Kebidanan, Departemen Klinik,
Reproduksi dan Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan,
Institut Pertanian Bogor

Jl. Agatis Kampus IPB Dramaga Bogor, 16680 Indonesia,

Telp: (0251) 8626460, Fax: (0251) 8623940

³Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia,

Jl. Raya Bogor Km. 46, Bogor, 16911, Indonesia.

Email : areva.handayani@gmail.com

ABSTRACT

The purpose of this research is to analyze the difference between the quality of SNI certified frozen semen with the quality Non SNI certified frozen semen. This research was divided into two phases, first phase was collection of production management data at BIB and the second one was evaluation of the frozen semen quality by using parameters quality, viability, abnormality, plasma membran Integrity (PMI), concentration and deoxyribonucleid acid (DNA) fragmentation at laboratory. Data from laboratory was analyzed using analysis of variance (ANOVA) and Duncan test, while data from production management was analyzed using scoring system and comparative descriptive method. The result from analysis and Duncan test showed that SNI certified frozen semen has better quality than Non SNI certified frozen semen. The quality of frozen semen was correlated with the production management, so the improvement for management of quality was also needed for improve quality the frozen semen product.

Keywords : frozen semen, production management, SNI

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah menganalisis perbedaan kualitas semen beku yang sudah memiliki sertifikasi Standar Nasional Indonesia (SNI) dengan semen beku yang belum memiliki sertifikasi SNI. Penelitian dilakukan dalam dua tahap, tahap pertama adalah analisis data manajemen produksi semen beku di tempat produksi dengan melihat proses produksi semen beku mulai dari pra produksi dilanjutkan ke proses produksi sampai dengan post produksi, tahap kedua adalah evaluasi kualitas semen beku di laboratorium reproduksi LIPI dengan melihat parameter motilitas, viabilitas, abnormalitas, membran plasma utuh, konsentrasi dan fragmentasi DNA. Data laboratorium dianalisis dengan menggunakan analisis ragam dilanjutkan dengan uji Duncan, sedangkan data manajemen dianalisis dengan menggunakan skoring dan metode deskriptif komparatif. Hasil uji laboratorium menunjukkan bahwa kualitas semen beku yang sudah memiliki SNI lebih baik dibandingkan dengan semen beku yang belum memiliki SNI, analisis manajemen juga menunjukkan korelasi positif dengan hasil uji lab dimana manajemen produksi semen beku yang sudah ber SNI menghasilkan kualitas semen beku yang lebih baik. Dalam kesimpulannya, manajemen produksi semen beku sangat erat kaitannya dengan kualitas semen beku yang dihasilkan oleh produsen. Untuk bisa meningkatkan kualitas, maka diperlukan juga peningkatan manajemen produksinya.

Kata kunci : Manajemen produksi, Semen beku, SNI

PENDAHULUAN

Inseminasi buatan adalah salah satu teknologi reproduksi generasi pertama yang mampu dan telah terbukti berhasil meningkatkan perbaikan mutu genetik ternak. Teknologi IB dapat menghasilkan keturunan dengan kualitas yang baik dalam jumlah besar dengan memanfaatkan pejantan unggul. Inseminasi buatan (IB) dianggap mampu untuk menghasilkan keturunan yang meningkat kualitasnya secara genetik (Flores *et al.* 2011; Masoudi *et al.* 2016). Untuk menjamin keberhasilan IB dibutuhkan banyak faktor pendukung yang saling bersinergis sehingga IB ini bisa berhasil. Pelaksanaanya perlu memperhatikan sumber daya manusia (SDM) pelaksana, sarana prasarana penunjang, kondisi akseptor dan lain lain. Kegiatan IB umumnya menggunakan semen beku yang diproduksi melalui serangkaian tahapan, untuk selanjutnya diinseminasikan ke saluran reproduksi betina. Semen beku akan diproses dengan metode kriopreservasi, dimana perubahan yang terjadi selama aktivitas pembekuan tersebut bisa menyebabkan kerusakan pada struktur spermatozoa seperti kerusakan DNA, membran plasma, akrosom yang berefek pada penurunan fertilitas (O'connel *et al.* 2002). Hal ini sesuai dengan pernyataan Jae yoon *et al.* (2015) bahwa selama proses kriopreservasi dilakukan, ada efek cekaman pembekuan yang menyebabkan kerusakan substansi sel spermatozoa, terutama pada tahap pembekuan dan tahap *thawing*. Dalam proses pembuatan semen beku, spermatozoa akan mengalami penurunan kualitas hingga 50% karena proses kriopreservasi (Lessard *et al.* 2000 ; Khalil *et al.* 2018). Hal inilah yang menyebabkan perlu adanya pengujian kualitas semen beku untuk mengetahui sejauh mana penurunan kualitas yang terjadi setelah proses pembekuan. Kualitas spermatozoa dapat dilihat melalui beberapa parameter sederhana antara lain motilitas, viabilitas, abnormalitas (Mansour 2009), keutuhan DNA (Morrel dan Rodriguez-Martinez 2009) dan keutuhan membran plasma (Brito *et al.* 2003). Selain itu parameter yang sudah mulai didalami untuk melihat kualitas spermatozoa adalah kondisi deoxyribonucleic acid (DNA), yaitu materi genetik yang diturunkan oleh induk pada keturunannya, sehingga substansi ini berperan sangat penting dalam proses fertilisasi dan perkembangan embrio.

Semen beku yang beredar di Indonesia saat

ini produksinya mengacu pada Standar Nasional Indonesia (SNI) semen beku sapi 4869.1.2017, SNI menyatakan bahwa semen beku memiliki standar motilitas minimal 40%, gerak individu minimal (++) dan konsentrasi minimal 25 juta spermatozoa/0,25 ml. Parameter standar ini ditetapkan oleh Badan Standardisasi Nasional (BSN) sebagai lembaga yang bertanggungjawab dalam menetapkan standardisasi dan penilaian kesesuaian sesuai dengan amanat undang undang no 14 tahun 2014 tentang standardisasi dan penilaian kesesuaian. Penelitian ini dilakukan berdasarkan kondisi penyediaan semen beku untuk kegiatan Upaya Khusus Sapi Wajib Bunting (Upsus Siwab) tahun 2017 dimana penyedia semen beku masih terbatas pada BBIB Singosari, BIB Lembang, BIBD Banjarbaru dan BIBD Ungaran untuk menyediakan sekitar 6 juta dosis semen beku yang diperlukan untuk kegiatan tersebut, padahal beberapa daerah di Indonesia sudah punya BIBD yang mampu memproduksi semen beku tetapi karena belum berstandar SNI sehingga tidak memenuhi syarat untuk penyediaan. Penelitian ini ingin melihat bagaimana kualitas semen beku yang sudah memiliki sertifikasi SNI dengan yang belum, serta bagaimana manajemen produksinya masing masing kategori tersebut. Diharapkan balai yang belum bersertifikasi SNI bisa meningkatkan kualitasnya dan mengajukan SNI semen bekunya.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret hingga Juni 2019 di Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) Singosari, Balai Inseminasi Buatan (BIB) Lembang, Balai Inseminasi Buatan Daerah (BIBD) Baturiti Bali, BIBD Tuah Sakato Sumatera Barat, Unit Pelaksana Teknis Daerah Inseminasi Buatan (UPTD IB) Jambi, Balai Pembibitan dan Pengembangan IB Ternak Sapi Potong (BPPIBT Ciamis) dan Laboratorium Reproduksi Puslit Bioteknologi LIPI.

Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam 2 (dua) tahap yaitu tahap pertama mengumpulkan dan menganalisis data manajemen pengelolaan semen beku yang dilaksanakan di masing masing balai inseminasi buatan dan dilanjutkan dengan tahap kedua yaitu mengevaluasi

kualitas semen beku secara laboratoris di Laboratorium Reproduksi Puslit Bioteknologi LIPI. Penelitian menggunakan semen beku dari 6 (enam) balai produsen, yang dihasilkan dari pejantan usia produktif. Semen beku yang digunakan berjumlah 60 dosis, terdiri dari 30 dosis semen beku yang sudah bersertifikasi Standar Nasional Indonesia (SNI) dengan rincian bangsa sapi bali 10 dosis, holstein friesian (FH) 10 dosis dan limousin 10 dosis serta 30 dosis yang belum ber SNI dengan rincian bangsa sapi bali 10 dosis, holstein friesian (FH) 10 dosis dan limousin 10 dosis.

Tahap 1. Analisis Data Manajemen Semen Beku

Manajemen produksi semen beku dibagi kedalam 3 (tiga) tahap yaitu tahap pra produksi, produksi dan post produksi. Tahapan pra produksi dimulai dengan pengamatan terhadap pejantan yang digunakan dalam produksi meliputi nama pejantan, umur produksi, asal pejantan, seleksi yang dilakukan, pemeliharaan, perkandangan, manajemen kesehatan dan penyakit. Tahapan produksi untuk mengamati proses pembuatan semen beku yang dimulai dari koleksi semen, pengemasan, pendinginan sampai dengan pembekuan. Tahapan post produksi mengamati prosedur penyimpanan dan distribusi semen beku ke lokasi yang membutuhkan. Pengambilan data manajemen pengelolaan semen beku dilakukan dengan menggunakan metode survey melalui pengisian kuesioner dan wawancara. Parameter manajemen diukur menggunakan metode skoring, kemudian data dianalisis secara deskriptif komparatif.

Tahap 2. Evaluasi Kualitas Semen Beku di Laboratorium

Pemeriksaan kualitas semen beku di laboratorium menggunakan 6 parameter yaitu motilitas, viabilitas, abnormalitas, membran plasma utuh (MPU), konsentrasi dan fragmentasi DNA. Semen beku yang digunakan untuk masing masing parameter sebanyak 10 dosis yang berasal dari 5 batch yang berbeda. Sebelum mulai pengujian, semen beku dicairkan kembali didalam penangas air suhu 37 °C selama 30 detik (Borah *et al.* 2015).

Motilitas

Sebanyak 10 µl sampel semen ditetaskan ke atas gelas objek dan ditutup dengan cover glass. Motilitas progresif dihitung menggunakan

computer assisted sperm analysis (CASA) berdasarkan pada analisis gambar spermatozoa yang bergerak maju (progresif) ke depan oleh software computer yang terkoneksi dengan mikroskop pembesaran 200 kali. Pengujian dilakukan pada empat lapang pandang secara otomatis (Michos *et al.* 2013)

Viabilitas spermatozoa

Pemeriksaan viabilitas spermatozoa menggunakan pewarnaan eosin nigrosine. Sebanyak 10 µl sampel semen ditetaskan diatas gelas objek, selanjutnya ditambahkan 20 µl larutan eosin nigrosine. Campuran dihomogenkan dan dibuat preparat ulas pada gelas objek yang berbeda, difiksasi dengan menggunakan *heating table*. Preparat diamati dibawah mikroskop yang dihubungkan dengan monitor dengan perbesaran 400x. Spermatozoa yang mati berwarna merah, sedangkan spermatozoa yang masih hidup tidak terwarnai (transparant). Total spermatozoa yang dihitung sebanyak 200 sel atau minimal 10 lapang pandang dan disajikan dalam bentuk persentase.

Abnormalitas spermatozoa

Pemeriksaan abnormalitas spermatozoa menggunakan pewarnaan eosin nigrosine. Sebanyak 10 µl sampel semen ditetaskan diatas gelas objek, selanjutnya ditambahkan 20 µl larutan eosin nigrosine. Campuran dihomogenkan dan dibuat preparat ulas pada gelas objek yang berbeda, difiksasi dengan menggunakan *heating table*. Preparat diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x, untuk memudahkan perhitungan spermatozoa maka mikroskop dihubungkan dengan monitor. Total spermatozoa yang dihitung sebanyak 200 sel atau 10 lapang pandang dan disajikan dalam bentuk persentase.

Membran plasma utuh (MPU)

Keutuhan membran plasma spermatozoa diamati dengan menggunakan larutan hypoosmotic swelling (HOS) Test. Sebanyak 30 µl semen dimasukkan kedalam microtube yang sudah terisi 300 µl larutan HOS dan dihomogenkan. Selanjutnya larutan tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Suspensi sebanyak 10 µl ditetaskan diatas gelas objek dan ditutup dengan cover glass. Pengamatan dilakukan dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x, dengan jumlah spermatozoa sebanyak 200 sel atau 10 lapang pandang. Spermatozoa dengan membran plasma

yang masih utuh menunjukkan rekasi ekor yang melingkar (*coil*).

Konsentrasi

Penghitungan konsentrasi spermatozoa dalam 1 straw semen beku menggunakan alat Neubauer chamber. Sebanyak 10 μ l semen diteteskan ke dalam microtube yang sudah terisi formolsalin 990 μ l (pengenceran 100 kali). Campuran semen dan larutan formolsalin dihomogenkan, selanjutnya sebanyak 10 μ l diteteskan ke dalam Neubauer chamber dan ditutup dengan coverglass. Perhitungan dilakukan dengan menghitung jumlah spermatozoa yang terdapat pada lima kotak besar, dengan formasi empat kotak di masing-masing sudut dan satu kotak pada bagian tengah. Perhitungan dilakukan pada dua ruangan yang terdapat dalam Neubauer chamber, dengan jumlah spermatozoa yang didapatkan merupakan rata-rata dari kedua ruangan yang diamati.

Jumlah spermatozoa per ml didapatkan dengan rumus : $N \times 5 \times FP \times 10.000$, dimana N adalah jumlah spermatozoa, 5 adalah jumlah kotak yang dihitung, FP adalah faktor pengenceran dan 10.000 adalah kedalaman Neubauer chamber 0,0001/ml. Untuk menghitung jumlah spermatozoa dalam satu straw maka hasil dari rumus di atas dibagi 4, karena volume dalam satu straw sebanyak 0,25 ml.

Fragmentasi DNA

Pengujian fragmentasi DNA menggunakan pewarnaan acridine orange (AO) dan diamati dengan menggunakan mikroskop *fluorescence*. Semen dibuat preparat ulas dan dikeringkan. Preparat direndam selama 2 jam dengan menggunakan larutan Carnoy yang terdiri dari campuran asam asetat dan methanol dengan komposisi satu berbanding tiga (1 : 3). Selanjutnya preparat dikeringkan dan dimasukkan ke dalam larutan acridin orange 1% dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam dalam kondisi gelap. Setelah itu preparat dicuci dengan aquadest dan dikeringkan, preparat harus tetap berada dalam kondisi gelap. Preparat diamati dibawah mikroskop *fluorescence* panjang gelombang 450 – 490 nm dan perbesaran 400x, dengan menghitung 200 sel spermatozoa atau 10 lapang pandang. Spermatozoa yang terfragmentasi akan memancarkan warna orange berpendar, sedangkan spermatozoa yang tidak terfragmentasi akan menghasilkan warna hijau.

Analisis Data

Data hasil uji laboratorium diolah dengan menggunakan analisis ragam sederhana (ANOVA), nilai yang diperoleh disajikan dalam bentuk nilai rata-rata dan standar deviasi dengan signifikansi $P < 0.05$. dilanjutkan dengan uji Duncan untuk membandingkan kedua kategori semen beku. Data manajemen produksi semen beku diolah dengan metode skoring, dilanjutkan dengan analisis deskriptif komparatif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Manajemen Produksi Semen Beku

Dengan menggunakan sistem skoring, terlihat bahwa semen beku yang sudah ber SNI dihasilkan oleh Balai Inseminasi Buatan yang memiliki manajemen pengelolaan produksi yang sangat baik, dimana dalam setiap tahapan produksinya memiliki sumber daya manusia yang cukup dan terampil dalam proses, sarana prasarana yang memadai, kontinuitas dalam pemeliharaan dan pemberian pakan. Semen beku yang belum ber SNI dihasilkan dari Balai yang memiliki manajemen pengelolaan yang sudah baik, tetapi masih perlu ditingkatkan lagi sehingga bisa memberikan hasil produksi yang lebih optimal. Dari 17 parameter yang dinilai dalam pengelolaan produksi, memperlihatkan bahwa Balai yang memproduksi semen beku ber SNI memiliki keunggulan dalam beberapa parameter, terutama parameter kecukupan sumber daya manusia (SDM) dalam pemeliharaan ternak dan produksi laboratorium, Ketersediaan pakan dan kontinuitas ketersediaan nitrogen cair. Pengamatan manajemen produksi semen beku yang berasal dari 6 Balai produsen disajikan dengan menggunakan 17 parameter yang menggambarkan tahapan proses pra produksi, produksi dan post produksi semen beku. Setiap parameter diberi skor 1–5 dengan masing-masing angka memiliki nilai mutu. Rekapitulasi hasil disajikan pada tabel 1.

Dari data tabel 1 dapat dilihat bahwa Balai-Balai IB yang menghasilkan semen beku ber SNI memiliki nilai rata-rata untuk keseluruhan parameter berturut-turut 4.76, 4.64 dan 4.35. Sedangkan nilai rata-rata keseluruhannya berjumlah 4.58. Nilai rata-rata yang didapatkan jika dibandingkan dengan skala mutu maka masuk dalam kategori sangat baik (A). Untuk

Tabel 1. Data manajemen pengelolaan semen beku

No	Parameter	SNI			Non SNI		
		Produsen I	Produsen II	Produsen III	Produsen I	Produsen II	Produsen III
Pra produksi							
1	Seleksi pejantan	3	3	3	2	3	2
2	Umur	5	4	4	5	5	5
3	Pemeriksaan kesehatan	5	5	5	4	4	4
4	Pemeliharaan	5	5	4	4	4	4
5	Perkandangan	5	5	4	4	4	4
6	Kebersihan kendang	5	5	4	4	4	4
7	Pakan	5	5	5	3	3	3
8	Kecukupan lahan pakan	5	5	5	3	3	3
Produksi							
9	Penampungan	5	5	5	5	5	5
10	Frekuensi penampungan	5	5	5	5	5	5
11	Pembuatan semen beku	5	5	4	4	4	4
12	Pengencer yang dipakai	4	3	4	5	5	3
13	SDM produksi semen beku	5	5	5	4	3	3
Post produksi							
14	Penyimpanan semen beku	5	5	5	5	5	5
15	SDM <i>handling</i> semen beku	5	5	5	4	3	4
16	Distribusi semen beku	4	4	4	4	4	4
17	Ketersediaan nitrogen cair	5	5	3	3	3	3
	Jumlah rata-rata	4.76	4.64	4.35	4.00	3.94	3.82
	Total rata-rata		4.58			3.92	

Ket : skoring nilai total menggunakan skala angka 1-5 yang dikonversikan kedalam bentuk nilai mutu angka 0.00 – 0.99 : Sangat buruk (C) angka 1.00 – 1.99 : Buruk (BC) angka 2.00 – 2.99 : Sedang (B) angka 3.00 – 3.99 : Baik (AB) angka 4.00 – 5.00 : sangat baik (A)

manajemen produksi balai yang menghasilkan semen beku belum ber SNI, yaitu menghasilkan nilai berturut-turut sebesar 4.00, 3.94 dan 3.82 dengan jumlah nilai rata-rata keseluruhan 3.92. Total nilai tersebut masuk dalam kategori baik (AB) dalam manajemen produksi semen beku.

Sumber daya manusia adalah salah satu instrumen penting dalam mencapai berbagai tujuan bagi suatu organisasi (Irianto 2011), dan menjadi salah satu kunci keberhasilan suatu organisasi dalam mencapai targetnya. Dalam produksi semen beku, kualitas dan kuantitas SDM dalam hal ini adalah jumlah SDM yang cukup dengan latar belakang pendidikan dan keterampilan yang baik menjadi salah satu faktor yang cukup krusial dalam menentukan kualitas produk yang dihasilkan. Parameter lain yang mempengaruhi kualitas semen beku dalam penelitian ini adalah asupan nutrisi yang diberikan kepada pejantan. Menurut Martin *et al* (2010) pakan sangat mempengaruhi kualitas

semen sapi pejantan, dimana kandungan nutrisinya mempengaruhi produksi spermatozoa, sekresi hormon gonadotropin dan perkembangan perilaku seksual. Kualitas dan kuantitas yang cukup dan kontinu menjadi kunci bagi balai dalam mempertahankan kualitas produk semen beku yang dihasilkan. Parameter ketersediaan nitrogen cair menjadi salah satu parameter yang membedakan antara balai yang menghasilkan semen beku ber SNI dan belum, terlihat bahwa balai ber SNI memiliki ketersediaan nitrogen cair yang berkesinambungan karena memiliki tempat penyimpanan nitrogen cair berkapasitas sangat besar, serta akses yang dekat dengan penyedia nitrogen cair sehingga kemungkinan untuk mengalami kekurangan nitrogen cair sangat minimal, sementara balai yang menghasilkan semen beku belum ber SNI rata-rata belum memiliki tempat penyimpanan yang berukuran besar, serta akses menuju penyedia semen beku cukup jauh sehingga ada kemungkinan mengalami kekurangan nitrogen

cair dalam manajemen pemeliharaan semen beku.

Produksi dan distribusi semen beku oleh suatu institusi diatur oleh peraturan pemerintah melalui keputusan Menteri Pertanian nomor 10 tahun 2016, yang dijadikan pegangan oleh setiap produsen semen beku dalam operasional produksi dan distribusi, dituangkan dalam *standard operational procedure* (SOP) oleh masing-masing balai inseminasi buatan. Hal ini menyebabkan semua produsen pada dasarnya memiliki standar operasional sama, yang membedakan adalah kualitas dalam implementasi operasional atau penerapan di tempat masing masing.

Kualitas Semen Beku Hasil Uji Laboratorium

Kualitas semen beku yang berasal dari enam balai produsen yang berbeda, dikategorikan menjadi semen beku yang sudah bersertifikasi SNI dan belum memiliki sertifikasi SNI, dilakukan pengujian terhadap enam parameter pengujian yaitu motilitas, viabilitas, abnormalitas, konsentrasi, membran plasma utuh dan fragmentasi DNA.

Hasil pengujian laboratorium tanpa melihat perbedaan bangsa ditampilkan pada tabel 2.

Dari tabel 2 dapat terlihat bahwa pada parameter motilitas, viabilitas, abnormalitas dan membran plasma utuh secara statistik memiliki perbedaan yang signifikan antara semen beku yang sudah ber SNI dengan yang belum, sedangkan untuk parameter konsentrasi spermatozoa dan fragmentasi DNA tidak ada perbedaan yang signifikan.

Motilitas merupakan parameter yang umum digunakan untuk melihat kualitas spermatozoa. Hasil analisis motilitas progresif

pada semen beku yang sudah ber SNI adalah 60.31 ± 14.65 , sedangkan untuk semen beku yang belum memiliki sertifikasi SNI adalah 42.66 ± 18.03 . Hasil tersebut menunjukkan bahwa kedua kategori semen beku sudah memenuhi syarat motilitas yang ditetapkan oleh SNI semen beku sapi 4869.1-2017 yaitu lebih dari 40% (BSN 2017). Menurut (Ozkavucku *et al.* 2008) terdapat hubungan antara persentase penurunan motilitas spermatozoa setelah pembekuan dengan kerusakan dari mitokondria.

Viabilitas mempengaruhi kemampuan dari spermatozoa untuk membuahi sel telur yang akan menjamin tingkat keberhasilan fertilisasi pada betina. Nilai persentase viabilitas pada semen beku yang sudah bersertifikasi SNI sebesar 82.65 ± 4.7 , sedangkan viabilitas untuk semen beku yang belum bersertifikasi adalah sebesar 75.29 ± 9.83 . Menurut Rasul *et al.* (2007) bahwa viabilitas spermatozoa pada umumnya akan menurun sebesar 50% setelah melewati proses kriopreservasi, sedangkan menurut Dhanju *et al.* (2001) bahwa penurunan viabilitas spermatozoa setelah pembekuan bisa mencapai 20 sampai 30%. Jadi dapat disimpulkan bahwa viabilitas spermatozoa pada kedua kategori semen beku masih tergolong baik, karena persentase hidupnya mencapai angka diatas 50%.

Nilai persentase abnormalitas pada penelitian ini untuk semen beku yang sudah memiliki sertifikasi SNI sebesar 7.84 ± 2.25 , dan besaran abnormalitas untuk semen beku yang belum bersertifikasi adalah sebesar 9.37 ± 1.75 . Menurut Garner and Hafez (2008) bahwa abnormalitas spermatozoa tidak boleh melebihi 20% agar bisa masuk kategori spermatozoa yang berkualitas baik,. Hal ini membuktikan bahwa walaupun secara statistik terdapat perbedaan

Tabel 2. Hasil uji laboratorium semen beku

No	Parameter	SNI	Non SNI
1	Motilitas (%)	60.31 ± 14.65^a	42.66 ± 18.03^b
2	Viabilitas (%)	82.65 ± 4.7^a	75.29 ± 9.83^b
3	Abnormalitas (%)	7.84 ± 2.25^a	9.37 ± 1.75^b
4	Konsentrasi (juta sperma/0,25 ml)	35.83 ± 5.42^a	34.32 ± 9.58^a
5	MPU (%)	41.92 ± 10.24^a	33.5 ± 10.43^b
6	Fragmentasi DNA (%)	1.81 ± 1.16^a	1.60 ± 0.46^a

Huruf kecil superscript berbeda yang mengikuti angka pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan pada taraf nyata 5%

yang signifikan antara semen beku bersertifikasi SNI dan belum ber SNI, tetapi kedua nya masuk kedalam kategori semen beku yang layak untuk fertilisasi. Abnormalitas yang sering ditemui pada spermatozoa adalah kepala putus dan kerusakan ekor seperti melingkar. Menurut Di Santo *et al.* (2012) spermatozoa abnormal ternyata lebih sensitif terhadap kerusakan DNA dibandingkan dengan spermatozoa dengan morfologi normal. Aliran cairan yang masuk ke dalam sel akan menyebabkan perubahan osmolalitas seluler dan perubahan struktur membran, yang berakibat pada morfologi spermatozoa (O'connel *et al.* 2002; Ozkavucku *et al.* 2008)

Membran plasma berperan penting dalam keberhasilan fertilisasi spermatozoa dengan sel telur. Kerusakan membran plasma menyebabkan produksi adenosine tri phosphat (ATP) sebagai sumber energi menjadi terhambat sehingga spermatozoa menjadi tidak bisa bergerak (Colenbrader *et al.* 2003). Pada penelitian ini membran plasma utuh pada semen beku yang sudah ber SNI sebesar 41.92 ± 10.24 , dan untuk semen beku yang belum ber SNI adalah 33.5 ± 10.43 . Penurunan jumlah membran plasma utuh memiliki hubungan yang kuat dengan penurunan kemampuan spermatozoa untuk membuahi oosit. Komposisi lemak yang terdapat pada membran plasma adalah faktor yang dominan mempengaruhi kemampuan spermatozoa bertahan dari suhu dingin dan proses pembekuan. Perbedaan komposisi asam lemak dan rasio omega 3 atau omega 6 yang berbeda levelnya pada setiap spesies akan memberi hasil yang berbeda (Esmaeli *et al.* 2015)

Hasil analisis untuk konsentrasi pada semen beku yang sudah ber SNI sebesar 35.83 ± 5.42 , sedangkan untuk semen beku yang belum memiliki SNI adalah 34.32 ± 9.58 . Menurut standar SNI 4869.1:2017 bahwa konsentrasi semen beku yang optimal memungkinkan untuk terjadi fertilisasi adalah diatas 25 juta sel spermatozoa, maka pada penelitian ini menunjukkan bahwa kedua kategori sama-sama memenuhi syarat jumlah konsentrasi minimal untuk bisa membuahi sel telur betina dalam kondisi optimal.

Hasil analisis data pada penelitian ini menunjukkan bahwa semen beku yang memiliki sertifikasi SNI memiliki kerusakan DNA sebesar 1.81 ± 1.16 , sedangkan untuk semen beku yang belum bersertifikasi sebesar $1.60 \pm$

0.46. Hal ini menunjukkan bahwa seluruh sampel semen beku dari kedua kategori memiliki kerusakan DNA yang sangat sedikit. Berdasarkan penelitian Bochnek *et al.* (2000) menyebutkan bahwa tingkat fertilitas menurun pada pejantan yang memiliki kerusakan DNA sebesar 10%, sedangkan Larson-Cook *et al.* (2003) dan Michael *et al.* (2013) menyebutkan bahwa fragmentasi DNA dalam semen yang berjumlah kurang dari 15% masih berada dalam kondisi normal, sedangkan pejantan yang memiliki kerusakan DNA diatas 25% bisa dikategorikan pejantan yang infertile. Integritas DNA adalah salah satu hal yang menjadi perhatian dalam proses pembekuan, karena ketika proses kriopreservasi berlangsung, terjadi perubahan pada membran mitokondria dan meningkatkan potensi terjadinya ROS, yang bisa ber efek pada terjadinya oksidasi pada DNA sehingga meningkatkan kerusakan pada rantai DNA (Said *et al.* 2010), selain itu (Bogle *et al.* 2017) menyatakan bahwa kerusakan *enzyme repair* DNA salah satu faktor yang menyebabkan terjadinya kerusakan DNA setelah pembekuan.

SIMPULAN

Dalam penelitian ini terlihat bahwa manajemen produksi semen beku yang sudah ber SNI dihasilkan oleh balai yang lebih baik dalam penilaian parameter sarana prasarana serta kualitas dan kuantitas SDM dibandingkan dengan balai yang memproduksi semen beku non SNI. Sementara berdasarkan hasil pengujian laboratorium untuk kedua kategori semen beku sebenarnya sudah sama sama memenuhi syarat standar SNI, tetapi kualitas semen beku yang sudah ber SNI memperlihatkan hasil yang lebih baik dibandingkan yang belum ber SNI. Terdapat korelasi positif dari hasil penelitian yaitu semakin baik manajemen produksinya maka akan semakin baik pula kualitas semen beku yang dihasilkan.

SARAN

Proses menghasilkan semen beku memerlukan beberapa perbaikan manajemen dari balai produsen dalam pengelolaannya sehingga bisa didapatkan semen beku yang berkualitas tinggi dan siap untuk pengajuan SNI.

DAFTAR PUSTAKA

- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. 2017. Standar Nasional Indonesia (SNI) semen beku – bagian 1: sapi. 4869.1:2017.
- Bochenek M, Smorag Z, Pilch J. 2001. Sperm chromatin structure assay of bulls qualified for artificial insemination. *Theriogenology* 56(4): 557-567.
- Bogle OA, Kumar K, Attardo-Parinello C, Lewis SE, Estanyol JM, Balleca J, Oliva R. 2017. Identification of protein changes in human spermatozoa throughout the cryopreservation process. *Andrology* (5): 10–22.
- Borah BKD, Bharat CD, Ranjan KB, Prithiviraj C, Sourabh D, Sudip S, Kutubudin A. 2015. Effect of thawing methods on frozen semen quality of yak (*poephagus grunmens L*) bulls. *Vet world* 8(7): 831-834.
- Brito LF, Barth AD, Bilodeau-Goessel S, Panich PL, Kastelic JP. 2003. Comparison of methods to evaluate plasmalemma of bovine sperm and their relationship with in-vitro fertilization rate. *Theriogenology* 60(8): 1539-1551.
- Celeghini ECC, Naschimento J, Raphael CFA, Andrade AFC, Arruda PR. 2010. Simultaneous assessment of plasmalemma, acrosomal and mitochondrial in ram sperm by fluorescent probes. *Arq bras med vet zootec* 62(3): 536–543.
- Colenbrader B, Gadella BM, Stout TAE. 2003. The Predictive value of semen analysis in the evaluation of the stallion fertility. *Reprod Dom Anim* 38(4): 305-311.
- Dhanju CK, Cheema RS, Kaur SP. 2001. Effects of freezing on protein and profile of sperm membranextracts and seminal plasma of buffalo bulls. *AJAS* 14(12): 1678-1682.
- Di Santo M, Tarozzi N, Nadalini M, Borini A. 2012. Human Sperm Cryopreservation: Update on techniques, effect on DNA Integrity, and implication for art. *Adv urol*: 854837.
- [Ditjen PKH] Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. 2017. Petunjuk Pelaksanaan Upsus Siwab 2017. Jakarta (ID). Ditjen PKH Kementerian Pertanian.
- Esmaeli V, Shahverdi AH, Moghadasian MH, Alizadeh AR. 2015. Dietary Fatty Acids affect semen quality: a review. *Andrology* 3(3): 450–461.
- Flores E, Ramio-Lluch L, Bucci D, Fernandez-Novell JM, Pena A, Rodriguez-Gil JE. 2011. Freezing-Thawing Induces alterations in histone h1-DNA binding and the breaking of protein-DNA disulphide bonds in boar sperm. *Theriogenology* 76(8): 1450–1464
- Garner DL, Hafez ESE. 2008. Spermatozoa and plasma semen. Reproduction in farm animal. Hafez ESE and Hafez B (eds) 7th ed. Lippincott & Williams. Baltimore, Maryland, USA.
- Irianto J. 2011. Manajemen sumber daya manusia sektor publik di Indonesia: Pengantar pengembangan model SMDM sektor public. *J Unair* 24(4): 281-291.
- Jae Yoon S, Sung Kwon W, Rahman MS, Lee JS, Pang MG. 2015. A Novel approach to identifying physical markers of cryodamage in bull spermatozoa. *Plos One* 10(5): 6012-6232.
- Khalil WA, Mostafa, AE, Alan EB, Zeidan, Mahmoud AE, Hassan OM. 2018. Evaluation of bull spermatozoa during and after cryopreservation structural and ultrastructural insight. *Int J of Vet Sci and Med* 6: 549-556.
- Larson-cook KL, Brannian JD, Hansen KA, Kasperon KM, Aamold ET, Evenson DP. 2003. Relationship between the outcomes of assisted reproductive techniques and sperm DNA fragmentation as measured by the sperm chromatin structure assay. *Fertil Steril* 80(4): 895-902.
- Lessard C, Parent S, Leclerc P, Baileys JL, Sullivan R. 2000. Cryopreservation alters the levels of the bull sperm surface protein P25b. *J androl* 21(5): 700-707
- Mansour MM. 2009. Modification of hypo-osmotic swelling test to evaluate the integrity of stallion sperm plasma membrane. *Global Vet* 3(4): 302-307.
- Martin GB, Blache D, Miller DW, Vercoe E. 2010. *Interactions between nutrition and reproduction in the management of the mature male ruminant*. XIth international symposium on ruminant physiology (ISRP). France 4(7): 1214-1226

- Masoudi R, Sharafi M, Zareh Shahneh A, Towhidi A, dan Davachi ND. 2016. Fertility and Flow cytometry study of frozen-thawed sperm in cryopreservation medium supplemented with soybean lecithin. *Cryobiology* 73(1): 69-72.
- Michael J, Hengstberger KJ, Tutt D, Holroyd RG, Fordyce G, Boe Hansen GB, Johnston SD. 2013. Sperm chromatin in beef bulls in tropical environments. *Theriogenology* 79(6): 946-952.
- Michos IA, Basioura AG, Boscas CM, Tsakmakidis IA. 2013. Proper use and Impact of Computer Assisted Semen Analysis technique on semen evaluation of farm animals. *J Hellenic Vet Med Soc* 64(4): 267-274.
- Morrel JM and Rodriguez-Martinez H. 2009. Biomimetic techniques for improving sperm quality in animal breeding: a review. *J The Open And* 1:1-9.
- Ozkavukcu S, Erdemli E, Isik A, Oztuna D, Karahuseyinoglu S. 2008. Effects of cryopreservation on sperm parameters and ultrastructural morphology of human spermatozoa. *J Assist Reprod Genet* 25(8): 403-411.
- O'Connell M, McClure N, Lewis S. 2002. The effect of cryopreservation on sperm morphology, motility and mitochondrial function. *Hum Reprod* 17(3): 704-709.
- Rasul Z, Ahmed N, Anzar M. 2007. Antagonist effect of DMSO on the cryoprotection ability of glycerol during cryopreservation of buffalo sperm. *Theriogenology* 68(5): 813-819.
- Said TM, Gaglaini A, Agarwal A. 2010. Implication of apoptosis in sperm cryoinjury. *Reprod Biomed* 21(4): 456-462.