

**PENGARUH SUHU DAN LAMA *THAWING*  
TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA  
SAPI FRIES HOLLAND**

**SKRIPSI**

Oleh:

**SITI NURMALA SARI  
NIM : 03520016**



**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MALANG  
MALANG  
2008**

**PENGARUH SUHU DAN LAMA *THAWING*  
TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA  
SAPI FRIES HOLLAND**

**SKRIPSI**

Diajukan Kepada:

Universitas Islam Negeri Malang  
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam  
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S. Si)

Oleh:

Siti Nurmala Sari

Nim : 03520016

**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MALANG  
MALANG  
2008**

**PENGARUH SUHU DAN LAMA *THAWING*  
TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA  
SAPI FRIES HOLLAND**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**SITI NURMALA SARI**  
**NIM : 03520016**

Telah disetujui oleh:

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II

Dra. Retno Susilawati, M. Si

Munirul Abidin, M. Ag

Pada Tanggal: 24 Maret 2008

Mengetahui,  
Kajur Biologi

**Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M. Si**  
**NIP: 150 299 505**

**PENGARUH SUHU DAN LAMA *THAWING*  
TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA  
SAPI FRIES HOLLAND**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
SITI NURMALA SARI  
NIM : 03520016**

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan  
Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan  
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S. Si)

Tanggal :

**Susunan Dewan Penguji :**

**Tanda Tangan**

- |                  |                                                               |                        |
|------------------|---------------------------------------------------------------|------------------------|
| 1. Penguji Utama | : Dr. Drh. Bayyinatul Muchtaromah, M. Si<br>NIP : 150 299 505 | (                    ) |
| 2. Ketua         | : Drs. Eko Budi Minarno, M. Pd<br>NIP : 150 295 150           | (                    ) |
| 3. Sekretaris    | : Dra. Retno Susilawati, M. Si<br>NIP : 132 083 910           | (                    ) |
| 4. Anggota       | : Munirul Abidin, M. Ag.<br>NIP : 150 321 634                 | (                    ) |

**Mengetahui dan Mengesahkan  
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi**

**Dr. Drh. Bayyinatul Muchtaromah, M. Si  
NIP: 150 299 505**

# MOTTO

إِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا

“*sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan*”  
(*Alam Nashrah: 6*)

“**BE POSITIVE, BE HAPPY**”

## LEMBAR PERSEMBAHAN

*Relasi tanpa rupa Allah SWT, yang menciptakan aku dengan kelebihan dan kekurangan dalam memberi dan menerima.*

*Ayahanda yang slalu di hati dan Mamamia tercinta, dengan ketulusan hati dan bukti cinta yang suci yang senantiasa bersemayam dalam hati dan yang aku cintai selama hidupku.... yang telah mendidik, mengayomi dan mengasihiku setulus hati dan sesuci do'a. Kalian adalah langkahku. Semoga Allah senantiasa menganugerahkan rahmat dan hidayahnya kepada kalian.*

*Kakak\*ku yang terkasih, kalianlah sebagai motivasi masa depanku dan harapan akhirku.*

*Bu Retno, selaku dosen pembimbing yang sabar dalam membimbingku sehingga skripsi ini dapat terselesaikan juga. Serta yang g' lupa pula bu Lilik sebagai dosen yang baik buat aku, makasih bu..... tas smuanya.*

*Untuk guru\*ku dari TK sampai SMU dan dosen\*ku yang selalu menjadi pelita dalam studiku, karenamu aku dapat mewujudkan harapan dan anganku sebagai awal menggapai cita\*ku.*

*MinthulTarius....., sukron katsir atas fasilitasnya untuk aku berbagi cerita dan canda, menepis duka serta tempat menuai cinta. Kaulah yang telah membuatku bangkit dan terus melangkah.*

*Athunk, Penk- $\pi$ , Jup', Inun, C'ter, Zuma, Ana, Tino, N-Dik, semangat kalianlah yang menjadi cermin u/ aku. Masa lalu adalah kenangan indah, masa sekarang perlu dijalani N' masa depanlah yang perlu diraih.*

*AyCeSa (Crew Robet Reot) + D- $\pi$  + Na'e + Chotim + Iva + Minako, pengetahuan kalianlah guru bagiku.*

*Gank Snn-Drajat II/06; JanggeumWati, NanaSuhana, NeneThulai'ah and all of them, matur suwon yo kalian dengan tulus ikhlas membantu n' menghiburku.*

*Temen\* Bio '03, teman "cilik\*" Eva n Anita terimakasih atas cerita\* indahny beserta semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan namanya I/I yang telah meluangkan, terimakasih banyak.*

*Kepada kalian karya sederhana ini kupersembahkan.*

## KATA PENGANTAR



Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah yang telah dilimpahkan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si). penulis menyadari banyak pihak yang telah berpartisipasi dan membantu dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini. Untuk itu, iringan doa dan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan, utamanya kepada:

1. Prof. Dr. H. Imam Suprayogo selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Malang
2. Prof. Drs. Sutiman Bambang Sumitro, S.U., DSc selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang
3. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M. Si selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains Dan Teknologi UIN Malang.
4. Dra. Retno Susilowati, M.Si, yang telah sabar dan rela kehilangan banyak waktunya untuk membimbing proses penyelesaian skripsi ini.
5. Bapak, Ibu, dan kakak-kakakku serta semua pihak yang telah membantu dan memberikan dukungan, yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu.

Penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat untuk kita semua sehingga menambah khasanah ilmu pengetahuan.

Malang, 01 Maret 2008

Penulis

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN MOTTO .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>KATA PENGANTAR .....</b>	<b>iv</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>v</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>ix</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>x</b>
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang Masalah.....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	5
1.3 Tujuan Penelitian .....	5
1.4 Manfaat Penelitian .....	6
1.5 Hipotesis Penelitian.....	6
1.6 Batasan Masalah .....	6
<b>BAB II KAJIAN PUSTAKA</b>	
2.1 Ciri-Ciri Sapi Fries Holland (FH) .....	7
2.2 Morfologi Spermatozoa .....	8
2.3 Semen Sapi .....	9
2.3.1 Pengertian Semen Sapi .....	9
2.3.2 Semen Beku Sapi .....	10
2.3.2.1 Penampungan Semen .....	11
2.3.2.2 Evaluasi Semen .....	12
2.3.2.3 Pengenceran dan Pendinginan Semen.....	12
2.3.2.4 Pembekuan Semen .....	14
2.3.2.5 Pengemasan Semen .....	16
2.4 Inseminasi Buatan .....	18
2.5 Thawing .....	19
2.6 Uji Kualitas Semen .....	22
2.6.1 Motilitas Spermatozoa .....	22
2.6.2 Viabilitas Spermatozoa .....	24
2.6.3 Abnormalitas Spermatozoa .....	25
2.6.4 Integritas Membran Spermatozoa .....	26

2.7 Kajian Islam .....	27
2.7.1 Sapi dalam Kajian Islam .....	27
2.7.2 Reproduksi dalam Kajian Islam .....	28
2.7.3 Spermatozoa dalam Kajian Islam .....	30

### **BAB III METODE PENELITIAN**

3.1 Rancangan Penelitian .....	31
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian .....	31
3.3 Variabel Penelitian .....	31
3.4 Populasi dan Sampel .....	32
3.5 Alat dan Bahan .....	32
3.6 Variabel Pengamatan .....	33
3.7 Analisis Data .....	34

### **BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN**

4.1 Hasil Penelitian .....	35
4.2 Pembahasan .....	44
4.3 Kajian Islam Terkait Hasil Penelitian .....	53

### **BAB V PENUTUP**

5.1 Kesimpulan .....	58
5.2 Saran .....	58

<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	59
-----------------------------	----

<b>LAMPIRAN</b> .....	61
-----------------------	----

## DAFTAR TABEL

No	Judul	Halaman
1.	Warna dan kode <i>straw</i> yang digunakan dalam IB .....	17
2.	Rataan Motilitas Spermatozoa Semen Beku Pada Berbagai Suhu dan Lama <i>Thawing</i> dalam %.....	36
3.	Ringkasan ANOVA Pengaruh Suhu dan Lama <i>Thawing</i> terhadap Motilitas Spermatozoa Sapi FH.....	37
4.	Ringkasan Uji BNJ 1% dari Nilai Terendah Perbedaan Suhu dan Lama <i>Thawing</i> terhadap Motilitas Spermatozoa Sapi FH .....	38
5.	Rataan Viabilitas Spermatozoa Semen Beku Pada Berbagai Suhu dan Lama <i>Thawing</i> dalam %.....	38
6.	Ringkasan ANOVA Pengaruh Suhu dan Lama <i>Thawing</i> terhadap Viabilitas Spermatozoa Sapi FH.....	40
7.	Ringkasan Uji BNJ 1% dari Nilai Terendah Perbedaan Suhu dan Lama <i>Thawing</i> terhadap Viabilitas Spermatozoa Sapi FH .....	40
8.	Rataan Abnormalitas Spermatozoa Semen Beku Pada Berbagai Suhu dan Lama <i>Thawing</i> dalam %.....	40
9.	Ringkasan ANOVA Pengaruh Suhu dan Lama <i>Thawing</i> terhadap Abnormalitas Spermatozoa Sapi FH.....	41
10.	Ringkasan Uji BNJ 1% dari Nilai Terendah Perbedaan Suhu dan Lama <i>Thawing</i> terhadap Abnormalitas Spermatozoa Sapi FH .....	42
11.	Rataan Integritas Membran Spermatozoa Semen Beku Pada Berbagai Suhu dan Lama <i>Thawing</i> dalam %.....	43
12.	Ringkasan ANOVA Pengaruh Suhu dan Lama <i>Thawing</i> terhadap Integritas Membran Spermatozoa Sapi FH .....	44
13.	Ringkasan Uji BNJ 1% dari Nilai Terendah Perbedaan Suhu dan Lama <i>Thawing</i> terhadap Integritas Membran Spermatozoa Sapi FH .....	44

**DAFTAR GAMBAR**

No	Gambar	Halaman
1.	Spermatozoa dan bagian-bagiannya.....	8
2.	Peningkatan suhu pada semen beku sewaktu <i>thawing</i> .....	21
3.	Speratozoa yang menyerap warna dan yang tidak menyerap warna.....	24
4.	Spermatozoa abnormal.....	26
5.	Spermatozoa bengkak hasil pengamatan pada larutan HOS.....	47
6.	Spermatozoa abnormal hasil pengamatan.....	49
7.	Spermatozoa yang hidup hasil pengamatan.....	50

**DAFTAR LAMPIRAN**

Judul	Halaman
Lampiran 1. Penghitungan Motilitas Spermatozoa Sapi FH.....	62
Lampiran 2. Penghitungan Viabilitas Spermatozoa Sapi FH.....	65
Lampiran 3. Penghitungan Abnormalitas Spermatozoa Sapi FH .....	68
Lampiran 4. Penghitungan Integritas Membran Spermatozoa Sapi FH .....	71
Lampiran 5. Gambar Alat-alat dan Bahan-bahan penelitian .....	74

## ABSTRAK

Nurmalasari, Siti. 2008. **Pengaruh Suhu Dan Lama *Thawing* terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Fries Holland**. Skripsi, Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Malang. Pembimbing : Dra. Retno Susilawati, M.Si dan Munirul Abidin, M.Ag.  
**Kata Kunci** : *Thawing*, Kualitas Spermatozoa, Sapi FH

*Thawing* merupakan pencairan kembali semen yang telah dibekukan sebelum dilakukan Inseminasi Buatan (IB). Suhu dan lama *thawing* mempunyai pengaruh besar terhadap keadaan spermatozoa khususnya keutuhan spermatozoa dalam semen. Kombinasi suhu dan lama *thawing* yang baik adalah yang dapat mencegah kerusakan spermatozoa, sehingga tetap memiliki kemampuan membuahi ovum yang tinggi. Oleh karena itu, untuk mendapatkan kualitas spermatozoa semen beku sapi FH yang memenuhi kriteria dalam pelaksanaan IB dibutuhkan kombinasi suhu dan lama *thawing* yang baik.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui berapa suhu dan lama *thawing* semen beku sapi FH yang paling optimal untuk digunakan dalam IB. Penelitian dilakukan mulai bulan Nopember 2007 sampai Desember 2007. Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah semen beku dari sapi FH dari Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) Singosari dengan tahun produksi 1999 dan nomor urut pejantan 42. Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimental dengan 2 perlakuan yaitu suhu *thawing* 25°C, 34°C dan 37°C dan lama *thawing* 7 detik, 15 detik dan 30 detik. Tiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah motilitas, viabilitas, abnormalitas dan integritas membran spermatozoa. Viabilitas dan abnormalitas spermatozoa diamati dengan metode pewarnaan eosin-negrosin sedangkan pengamatan integritas membran spermatozoa dengan metode *Hypo-osmotic Swelling Test* (HOS Test). Data hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan ANOVA.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa suhu dan lama *thawing* berpengaruh terhadap kualitas spermatozoa semen beku sapi FH. Dari eksperimen yang dilakukan, kualitas spermatozoa yang paling optimal diperoleh pada suhu 37°C dengan lama *thawing* 30 detik, karena pada suhu dan lama *thawing* tersebut memiliki rata-rata kualitas yang paling tinggi diantara perlakuan yang lain dan telah memenuhi syarat IB, yakni >40% motilitas spermatozoa, >50% viabilitas spermatozoa, <20% abnormalitas spermatozoa dan memiliki nilai integritas membran >50%.

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 LATAR BELAKANG

Aplikasi Inseminasi Buatan (IB) secara meluas telah dimulai di Indonesia sejak tahun 1970-an terutama pada sapi perah, karena intensitas sapi perah lebih tinggi dibandingkan dengan sapi potong. Tujuan pengembangan usaha peternakan sapi perah antara lain meningkatkan populasi sapi perah, meningkatkan produksi sapi perah, meningkatkan pendapatan peternak, memperbaiki gizi masyarakat dan turut serta melestarikan sumber alam (Syarief dan Sumoprastowo, 1985).

Al-Qur'an banyak menjelaskan tentang binatang ternak yang salah satunya adalah sapi dan kegunaan serta faedahnya bagi umat manusia. Beberapa uraian Al-Qur'an perlu diungkapkan kembali untuk menunjukkan betapa Rahmat dan Kasih sayang Tuhan kepada manusia. Salah satunya pada surat Al-Mu'minuun ayat 21 yang berbunyi:

وَإِنَّ لَكُمْ فِي الْأَنْعَامِ لَعِبْرَةً ۚ نُسْقِيكُمْ مِمَّا فِي بُطُونِهَا وَلَكُمْ فِيهَا مَنَافِعُ كَثِيرَةٌ وَمِنْهَا تَأْكُلُونَ

*“Dan sesungguhnya pada binatang-binatang ternak, benar-benar terdapat pelajaran yang penting bagi kalian. Kami memberi minum kalian dari air susu yang ada dalam perutnya, dan (juga) pada binatang-binatang ternak itu terdapat faidah yang banyak untuk kalian, dan sebagian daripadanya kalian makan”.*

Firman Allah tersebut menjelaskan bahwa, hewan ternak yang salah satunya adalah sapi merupakan hewan yang sangat bermanfaat bagi manusia. Karena pentingnya sapi tersebut, dalam Al-Qur'an Allah menamakan salah satu suratnya dengan surat Al-Baqarah. Oleh karena itu, binatang ternak khususnya sapi harus dikembangkan sebagaimana mestinya. Menurut Ash-Shabury (2001), Allah menundukkan binatang-binatang ternak sebagai bukti tentang kekuasaan Allah dan pengaturan-Nya terhadap urusan hamba.

Salah satu sapi perah yang dikembangkan di Indonesia adalah sapi Fries Holland (FH). Sapi ini mempunyai produksi susu paling tinggi mencapai 5982 kg per laktasi dengan kadar lemak susu rata-rata 3,7% dibandingkan dengan sapi perah lainnya seperti sapi Brown Swiss yang mempunyai kadar produksi susu 5052 kg per laktasi dengan kadar lemak rata-rata 4,05% dan sapi Yersey yang mempunyai produksi susu 3844 kg per laktasi dengan kadar lemak rata-rata 5,29% (Syarief dan Sumoprastowo, 1985).

Peningkatan produksi susu dilakukan dengan menerapkan manajemen pemeliharaan dan proses pengolahan susu yang baik. Selain itu yang tidak kalah pentingnya adalah perbaikan sistem produksi dan mutu genetik untuk menghasilkan sapi dengan produksi dan kualitas susu yang tinggi (Harjoyo, 1996).

Teknik peningkatan mutu genetik ternak salah satunya dapat ditempuh dengan IB. IB merupakan proses perkawinan yang dilakukan dengan campuran tangan manusia, yaitu mempertemukan sperma dengan sel telur agar dapat terjadi proses pembuahan (fertilisasi) (Partodihardjo, 1992). Salah satu komponen terjadinya fertilisasi pada makhluk hidup adalah adanya spermatozoa. Hal ini seperti dijelaskan dalam Al-Qur'an surat An-Nuur ayat 45 yang berbunyi:

وَاللَّهُ خَلَقَ كُلَّ دَابَّةٍ مِّن مَّاءٍ<sup>ص</sup>

*“Dan sesungguhnya Allah telah menciptakan semua jenis hewan dari air”*

Kata “air” dalam ayat tersebut merujuk pada zat yang berada pada dasar pembentukan seluruh kehidupan hewan, yaitu diterapkan pada cairan mani yang biasanya disebut dengan semen. Semen merupakan salah satu bahan dasar penciptaan makhluk hidup yang berbentuk cair (Bucaille, 1997).

Hanya dengan setetes semen, dapat meningkatkan produksi ternak yaitu dengan menggunakan teknik IB. Hal ini karena kemampuan spermatozoa untuk membuahi tidak tergantung pada volume cairan yang dikeluarkan oleh pejantan. Menurut Toelihere (1985), bahwa volume semen bervariasi antara 1-12 ml tiap ejakulat untuk sapi yang masih muda, dan untuk sapi yang telah dewasa dapat menghasilkan semen tiap ejakulat 10-15 ml.

Teknologi IB dilakukan dengan maksud agar diperoleh efisiensi dan efektifitas dalam penggunaan pejantan terpilih, menghindari terjadinya penyakit melalui sarana reproduksi, atau untuk mengatasi bila terjadi kendala dalam proses perkawinan alami antara jantan dan betina. Menurut Toelihere (1993), IB dapat mencegah penularan penyakit yang dapat menyebabkan keguguran karena tidak terjadi kontak langsung dan semen telah diolah dengan penambahan antibiotika yang dapat mencegah pertumbuhan kuman, sehingga kemungkinan terjadinya keguguran kecil dibandingkan dengan perkawinan alami yang rentan terhadap keguguran, akibatnya dapat menghambat populasi.

Perkawinan seekor ternak atau hewan secara alami biasanya hanya mampu mengawini beberapa puluh ekor betina, sementara teknologi IB memungkinkan seekor jantan mengawini ratusan ribu ekor ternak yang berada pada lokasi dan waktu yang berbeda dan berjauhan. Menurut Toelihere (1993), bahwa Teknologi IB ini merupakan teknologi tepat guna yang dapat mempercepat proses peningkatan mutu ternak melalui pemakaian semen pejantan unggul. Selain itu, teknologi IB ini juga telah lama digunakan pada ternak besar dan telah terbukti peranannya dalam meningkatkan populasi ternak, dimana pada perkawinan alam tiap pejantan hanya dapat melayani 50 sampai 70 ekor betina tiap tahun tetapi dengan IB dapat melayani 5000 sampai 7000 ekor betina per tahun.

Semen yang digunakan dalam IB menggunakan semen beku yang banyak memberikan manfaat bagi peternak, karena tersedia semen yang dikehendaki setiap waktu dan peternak dapat memilih semen dari pejantan yang diinginkan. Kelebihan inilah yang menjadikan IB sebagai teknologi yang cepat dikenal oleh masyarakat luas (Partodiharjo, 1992).

Semen beku yang akan digunakan untuk IB diambil dari *container* yang berisi  $N_2$  cair yang mempunyai suhu  $-196^{\circ}C$  berbentuk padatan, oleh karena itu harus dilakukan *thawing* (pencairan kembali) sebelum IB. Suhu dan lama *thawing* mempunyai pengaruh besar terhadap keadaan spermatozoa khususnya keutuhan spermatozoa dalam semen. Kombinasi suhu dan lama *thawing* yang baik adalah yang mengakibatkan sedikit kerusakan spermatozoa, sehingga tetap memiliki kemampuan membuahi ovum yang tinggi (Toelihere, 1993).

Keberhasilan program IB antara lain dipengaruhi oleh kondisi induk yang sedang birahi, kualitas semen khususnya motilitas spermatozoa setelah *thawing* (PTM) dan keterampilan inseminator yang meliputi deteksi birahi, *thawing* dan penanganan semen serta pelaksanaan IB yang tepat waktu. Semen yang akan digunakan untuk IB minimal harus memiliki persentase motilitas spermatozoa setelah *thawing* sebesar 40%, jumlah spermatozoa motil minimal 12 juta/*straw* dan persentase spermatozoa yang abnormal maksimal 10% (Toelihere, 1993).

Banyak pendapat tentang berapa suhu dan lama *thawing* yang optimal untuk mendapatkan kualitas spermatozoa yang akan digunakan dalam pelaksanaan IB. Untuk itu perlu adanya penelitian tentang suhu dan lama *thawing* yang optimal agar kualitas semen masih memenuhi syarat untuk IB.

## **1.2 RUMUSAN MASALAH**

Dari latar belakang di atas dapat dirumuskan masalah sebagai berikut: berapa suhu dan lama *thawing* semen beku sapi FH yang optimal untuk digunakan dalam IB?

## **1.3 TUJUAN PENELITIAN**

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui suhu dan lama *thawing* semen beku sapi FH yang optimal untuk digunakan dalam IB.

#### 1.4 MANFAAT

Hasil penelitian ini dapat mengetahui suhu dan lama *thawing* yang efektif untuk mendapatkan spermatozoa yang lebih berkualitas dalam pelaksanaan IB dan dapat dijadikan sebagai sumber informasi tentang kualitas spermatozoa setelah *thawing* dengan hasil yang memuaskan, sehingga dapat digunakan sebagai pedoman inseminator di lapangan.

#### 1.5 HIPOTESIS

Suhu dan lama *thawing* semen beku sapi FH berpengaruh terhadap kualitas spermatozoa setelah *Thawing*.

#### 1.6 BATASAN MASALAH

1. Suhu dan lama *thawing* yang digunakan adalah dengan suhu 25°C, 34°C, dan 37°C selama 7 detik, 15 detik dan 30 detik.
2. Dalam penelitian ini kualitas spermatozoa sapi yang akan diteliti adalah motilitas, persentase hidup dan abnormalitas serta integritas membran spermatozoa sapi FH setelah *thawing*.

## BAB II

### KAJIAN PUSTAKA

#### 2.1 Ciri-Ciri Sapi Fries Holland (FH)

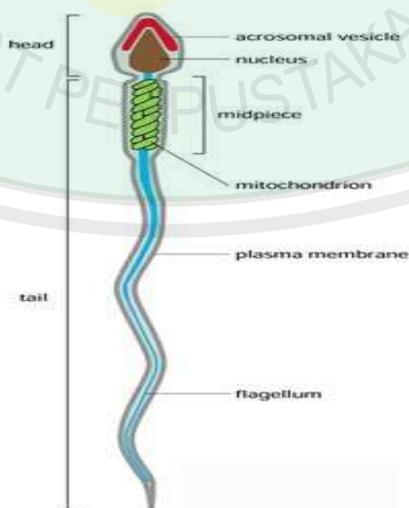
Sapi FH berasal dari daratan Eropa (negeri Belanda) yang memiliki lingkungan hidup dengan temperatur sekitar 22°C, sehingga tidak mengherankan apabila usaha sapi perah di Indonesia ini hanya terbatas di daerah-daerah tertentu yang bersuhu dingin. Sapi FH dikenal sebagai Holstein di Amerika dan di Eropa terkenal dengan nama Friesian (Hunter, 1995).

Tanda-tanda sapi FH adalah warna kulit putih dengan belang warna hitam, dapat juga hitam dengan belang putih sampai hitam. Ekor harus putih, warna hitam tidak diperkenankan, juga tidak diperbolehkan warna hitam di daerah bawah persendian siku dan lutut. Badan besar mempunyai kapasitas makan yang banyak, sapi betina memiliki ambing yang besar. Kepala panjang, sempit dan lurus, tanduk mengarah ke depan dan membengkok ke dalam. Sapi FH merupakan tipe sapi perah dengan produksi susu yang tinggi mencapai 5982 kg per laktasi dengan kadar lemak susu rata-rata 3,7% dan memiliki kelebihan lain yaitu mampu beradaptasi dengan baik di daerah tropis maupun sub tropis (Syarief dan Sumoprastowo, 1985).

## 2.2 Morfologi Spermatozoa

Spermatozoa normal memiliki kepala, leher, badan, dan ekor. Bagian depan kepala tampak sekitar  $2/3$  bagian tertutup oleh akrosom. Tempat sambungan dasar akrosom dan kepala disebut cincin nukleus. Antara kepala dan badan terdapat sambungan pendek yaitu leher yang berisi sentriol proksimal, kadang dinyatakan sebagai pusat kinetik aktifitas spermatozoa. Bagian badan dimulai dari leher dan berlanjut ke cincin sentriol. Bagian badan dan ekor mampu bergerak bebas meskipun tanpa kepala. Ekor membantu mendorong spermatozoa untuk bergerak maju (Salisbury and VanDemark, 1985).

Ukuran dan bentuk spermatozoa pada berbagai jenis hewan berbeda, namun struktur morfologinya sama. Panjang dan lebar kepala 8,0-10,0 mikron x 4,0-4,5 mikron, tebal kepala  $\pm$  0,5-1,0 mikron, dan badan mempunyai panjang 1,5-2 kali panjang kepala dan berdiameter 1,0 mikron. Ekor spermatozoa panjang 35,0-45,0 mikron dan berdiameter 0,4-0,8 mikron (Toelihere, 1985).



Gambar 2-1.  
Spermatozoa dan bagian-bagiannya (Salisbury and VanDemark, 1985)

## 2.3 Semen Sapi

### 2.3.1 Pengertian Semen Sapi

Semen adalah sekresi kelamin jantan yang diejakulasikan ke dalam saluran kelamin betina sewaktu kopulasi, tetapi dapat pula ditampung dengan berbagai cara untuk keperluan IB. Semen terdiri dari spermatozoa atau sel-sel yang berada dalam suatu cairan yang disebut plasma semen. Volume semen sapi yang diejakulasikan berbeda-beda menurut bangsa, umur, bobot badan, pakan dan frekuensi peampungan. Volume semen bervariasi antara 6-7 ml tiap ejakulasi. Sapi jantan yang masih muda akan menghasilkan sperma sekitar 1-2 ml atau lebih rendah dari itu, sedangkan sapi jantan yang telah dewasa, potensial dan memiliki berat badan 907,2 kg atau lebih dapat menghasilkan sperma tiap ejakulasi 10-15 ml (Salisbury and VanDermark, 1985).

Spermatozoa dibentuk di dalam testes melalui proses yang disebut spermatogenesis dan mengalami pematangan lebih lanjut di dalam epididimis dimana sperma disimpan sampai ejakulasi. Spermatozoa dibentuk dalam tubuli seminiferi yang berada di dalam testes. Tubulus ini berisi rangkaian sel yang kompleks yaitu perkembangan atau pembelahan sel dari germinal sampai dengan terbentuknya spermatozoa atau gamet jantan (Toelihere, 1985).

Menurut Partodihardjo (1992), seminal plasma adalah bagian yang tidak bersel. Sekitar 90% dari seminal plasma berupa sekresi dari epididimis, vas deferens, kelenjar prostat, dan vesika seminalis, serta kelenjar cowper, sehingga seminal plasma sangat berpengaruh terhadap sifat fisik dan kimia semen yang berguna sebagai *buffer* dan medium bagi spermatozoa agar dapat bertahan lama setelah ejakulasi (Toelihere, 1993).

### 2.3.2 Semen Beku Sapi

Semen beku adalah semen yang telah diencerkan menurut prosedur dengan tujuan selain untuk menyediakan makanan bagi spermatozoa juga untuk meningkatkan volume dengan menurunkan konsentrasi semen sehingga didapat 25 juta sel spermatozoa dalam satu *straw* yang sebelumnya telah dilakukan pemeriksaan saat semen segar. Kemudian dibekukan jauh dari titik  $0^{\circ}\text{C}$  tergantung pada zat yang dipakai untuk membekukan semen tersebut. Pembekuan bisa menggunakan es kering, cairan udara,  $\text{O}_2$  cair, dan  $\text{N}_2$  cair.  $\text{N}_2$  cair yang paling populer digunakan sebab dapat membekukan pada suhu yang paling rendah dan dapat menyimpan semen dalam waktu yang lama. Kombinasi es kering dan kristal  $\text{CO}_2$  dapat mencapai titik  $-70^{\circ}\text{C}$ , cairan  $\text{N}_2$  suhunya  $-196^{\circ}\text{C}$ , sedangkan  $\text{CO}_2$  cair dan udara cair suhunya  $-190^{\circ}\text{C}$  (Partodiharjo, 1992).

Model pengemasan semen beku yang biasa digunakan menurut Hafez (1993) yaitu:

1. *Straw* yang terbuat dari polivinil klorida, terdapat dua ukuran yaitu *ministraw* berisi 0,25 ml dan *midistraw* berisi 0,5 ml semen.
2. Ampul gelas berisi 0,5-1 ml semen.
3. *Pellet* berisi 0,1-0,2 ml semen.

Umur dan daya guna semen yang dibekukan akan bertahan lama karena pembekuan adalah menghentikan sementara kegiatan hidup dari sel (metabolisme sel) tanpa mematikan fungsi sel dimana proses hidup dapat terus berlanjut setelah pembekuan dihentikan. Jadi, pada prinsipnya menggunakan faktor penurunan temperatur untuk mempertahankan daya hidup dan kemampuan fertilisasi spermatozoa. (Partodiharjo, 1992).

### 2.3.2.1 Penampungan Semen

Beberapa cara penampungan semen sapi untuk tujuan IB telah berkembang, diantaranya dengan vagina buatan dan *electro-ejakulator*. Penggunaan vagina buatan untuk menampung semen sapi telah dipakai secara luas. Pejantan akan menaiki sapi betina pemancing dan akan berejakulasi pada waktu penis dimasukkan ke dalam vagina buatan. Vagina buatan terdiri dari silinder karet tebal dan keras, di dalamnya dilapisi silinder karet tipis dan merupakan kantung yang dapat diisi air panas. Salah satu ujung vagina buatan dipasang karet berbentuk corong untuk menampung semen. Vagina buatan yang telah diisi air panas dan di bagian dalam diberi pelicin, akan berfungsi untuk menampung semen (Salisbury and VanDemark, 1985).

Sterilisasi dalam pelaksanaan penampungan semen sangat diperlukan demi menjaga kebersihan semen. Perlakuan yang baik dan hati-hati terhadap pejantan diperlukan untuk memberikan rangsangan sebagai persiapan sebelumnya karena rangsangan ini akan dapat menaikkan kuantitas dan kualitas semen yang ditampung. Bila hewan pemancing tidak menimbulkan nafsu kawin bagi pejantan, maka hewan pemancing dan suasana lingkungan perlu diganti. Fasilitas yang cukup untuk menguasai pejantan dan hewan pemancing harus dilakukan supaya bahaya kecelakaan bagi penampung maupun bagi hewan itu sendiri dapat dihindari (Toelihere, 1985).

### **2.3.2.2 Evaluasi Semen**

Pemeriksaan harus meliputi pengamatan terhadap gambaran keseluruhan contoh semen, volume, konsentrasi sel dan motilitas. Segera sesudah penampungan diadakan pemeriksaan umum terhadap ejakulat di dalam tabung penampungan. Pemeriksaan terdiri dari pengamatan terhadap warna dan kekentalan semen, gelombang masa dan pencatatan semen dari sapi jantan yang bersangkutan tetapi penting untuk tujuan pengenceran (Salisbury and VanDemark, 1985).

Evaluasi semen terdiri dari uji makroskopis, mikroskopis, biokemis dan biologis. Uji yang rutin digunakan dalam suatu Balai Inseminasi Buatan (BIB) adalah uji makroskopis dan uji mikroskopis. Uji makroskopis meliputi volume, warna, konsistensi, dan bau. Volume semen dalam uji ini mencapai (2-10 ml), semen yang normal berwarna putih kekuningan, sedangkan yang abnormal berwarna kuning atau coklat, dan semen memiliki bau yang spesifik. Uji mikroskopis terdiri dari motilitas massa dan individu, viabilitas, konsentrasi dan abnormalitas (Hunter, 1982).

### **2.3.2.3 Pengenceran dan Pendinginan Semen**

Pengenceran semen memungkinkan IB sapi betina lebih banyak dan mempertahankan daya fertilisasi sebelum semen disemprotkan ke dalam alat kelamin betina pada waktu birahi. Bahan yang sering dipakai dalam pengenceran semen adalah kuning telur segar dan air susu yang telah dimasak. Semua persyaratan pengenceran harus dipenuhi terutama mengenai pengendalian kimiawi dan biologi yang terlibat dalam proses kehidupan spermatozoa, pada waktu fertilisasi, dan waktu implantasi (Salisbury and VanDemark, 1985).

Fungsi pengenceran semen adalah untuk memperbanyak volume, memberi media yang cocok untuk hidup spermatozoa, menjaga pH, tekanan osmotik dan sebagai perlindungan (krioprotektan). Pengenceran semen perlu menghindari adanya panas yang berlebihan, bahan kimia *toxic*, berhubungan dengan udara luar, sinar matahari langsung dan guncangan (Lindsay dkk, 1982). Syarat utama pengencer adalah harus mengandung energi (gula sederhana: fruktosa, glukosa, dll), *buffer* atau penyangga (pH sekitar 6-8 (Tris,  $\text{Na}_2\text{HCO}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , dll)), isotonis (tekanan osmose di dalam sel sama dengan di luar sel), mineral, antibiotik (dosis pencegahan), tidak *toxic*, murah dan mudah disiapkan, memberikan kemungkinan untuk uji kualitas, serta mengandung *cryoprotectanti* (Toelihere, 1993).

Menurut Partodihardjo (1992), pada pengenceran semen perlu diketahui asal mula dan syarat pengencer, pengencer harus dapat menjamin kebutuhan fisik dan kimia semen selama pendinginan. Pengencer merupakan media yang dapat memenuhi kebutuhan fisik dan kimia spermatozoa yang mempunyai fungsi memperbanyak volume semen, penyedia zat makanan dan bakteriostatik.

Pengencer semen yang digunakan dalam pengenceran tersebut biasanya menggunakan pengencer *Tris Aminomethan* kuning telur atau dengan menggunakan pengencer susu skim. Dari penelitian terdahulu Yudhaningsih (2004), disebutkan bahwa pengenceran menggunakan *Tris- Aminomethan* kuning telur lebih baik dibandingkan menggunakan pengencer susu skim. Hal ini karena pengenceran semen dengan menggunakan pengencer *Tris Aminomethan* kuning telur mempunyai kelebihan pada penilaian secara mikroskopis sangat jelas karena

tidak terdapat butir-butir lemak yang menyulitkan pemeriksaan, terdapat keseragaman kualitas produksi, daya tahan hidup dan motilitas spermatozoa sangat baik sehingga dapat meningkatkan angka kebuntingan (Zenichiro dkk, 2002).

Teknik pengenceran semen menurut Zenichiro dkk (2005) adalah:

- a. Semen segar yang didapat bila telah memenuhi syarat untuk dibekukan kemudian diproses lebih lanjut (dengan motilitas >70%)
- b. Semen segar ditambah *diluter* A (pengencer yang ditentukan dengan volume sama dengan semen segar)
- c. Ditambahkan sisa pengencer A<sub>2</sub> pada suhu 15°C
- d. Pada suhu 5°C ditambahkan *diluter* B yang berisi *diluter* A + gliserol yang dibuat hingga total gliserol adalah 13% dari total *diluter*. Pendinginan pada semen dilakukan secara perlahan untuk menghindari *cold shock* (kejutan dingin).

#### 2.3.2.4 Pembekuan Semen

Pembekuan merupakan proses pengeringan fisik, jika suatu larutan dibekukan maka air sebagai pelarut membeku menjadi kristal es, sedangkan bahan terlarut tidak berbentuk kristal es, tetapi terkumpul dalam larutan yang masih ada dan bertambah pekat karena molekul air tergabung dengan kristal es.

Proses pembekuan semen meliputi *cooling* (pendinginan), *pre freezing* (pembekuan awal), dan *freezing* (pembekuan).

a. *Cooling* (pendinginan)

*Cooling* adalah proses pendinginan semen setelah proses pengenceran, dimasukkan dalam gelas ukur tertutup dan ditempatkan pada beaker glass berisi air. *Cooling* sampai 5°C dapat dilakukan dengan memasukkan tabung-tabung yang berisi semen yang telah diencerkan dalam bak yang berisi air. Bak tersebut kemudian dimasukkan dalam refrigerator. Suhu air yang dipergunakan dalam *cooling* sesuai dengan suhu inkubasi semen segar yakni 37°C dan suhu 30°C (Lindsay, 1982).

b. *Pre freezing* (pembekuan awal)

*Straw* yang berisi semen diatur pada rak *straw* dan ditempatkan dalam uap N<sub>2</sub> cair sekitar 4,5 cm diatas permukaan nitrogen cair. Pembekuan ini berlangsung sekitar 10 menit, kemudian dimasukkan langsung ke dalam nitrogen cair (Toelihere, 1985).

c. *Freezing* (pembekuan)

*Freezing* merupakan proses penghentian sementara kegiatan hidup sel tanpa mematikan fungsi sel dan proses hidup dapat berlanjut setelah pembekuan dihentikan. Sedangkan semen beku adalah semen yang telah diencerkan menurut prosedur lalu dibekukan dibawah suhu 0°C atau titik beku air (Partodiharjo, 1992).

Menurut Toelihere (1993), pembekuan dapat menggunakan CO<sub>2</sub> padat, udara basah, O<sub>2</sub> cair dan nitrogen cair. Pembekuan dengan N<sub>2</sub> cair lebih sering digunakan karena suhunya yang sangat rendah dapat menyimpan semen dalam

jangka waktu yang lama. Pada proses ini *straw* direndam dengan suhu  $-196^{\circ}\text{C}$ . Volume  $\text{N}_2$  cair harus dikontrol secara periodik, karena jika kehabisan akan menaikkan suhu sehingga akan mematikan spermatozoa. Untuk menjamin kelangsungan hidup spermatozoa yang terkandung di dalam *straw* maka  $\text{N}_2$  cair di dalam kontainer tidak boleh kurang dari ukuran minimal yang ditentukan yaitu setinggi 3 inci. Seandainya tinggal 3 inci, maka penambahan  $\text{N}_2$  cair harus dilakukan segera dalam waktu 12 jam.

#### 2.3.2.5 Pengemasan Semen

Setelah dilakukan pembekuan dengan penambahan gliserol, semen dimasukkan ke dalam *straw*. *Straw* pada sapi biasanya berisi 25 juta sperma. Kemudian dilakukan equilibrasi diatas 10 cm nitrogen cair, dan dimasukkan ke dalam  $\text{N}_2$  cair dengan suhu  $-196^{\circ}\text{C}$  (Toelihere, 1993).

Penyimpanan semen beku harus ditempatkan ke dalam kemasan yang tahan bocor. Satu ampul berukuran 1 ml sering digunakan untuk tujuan tersebut. Ampul yang dibuat dari gelas atau plastik tidak mempengaruhi kesuburan semen yang disimpan di dalamnya (Salisbury and VanDemark, 1985).

Toelihere (1985) menyatakan bahwa penyimpanan dalam bentuk *straw* dapat menghemat tempat, ringan, dan praktis untuk dibawa kemana-mana serta dapat dibuat berbagai warna dimana setiap warnanya untuk mengidentifikasi pejantan tertentu. Ukuran isi dari *straw* bermacam-macam akan tetapi dewasa ini yang banyak digunakan di Indonesia adalah *medium size straw* yang berisi 0,5 ml dan *mini size straw* berisi 0,25 ml semen.

*Straw* mempunyai beberapa warna dan kode pejantan, kode bull, dan kode

bath Adapun warna dan kode *straw* yang digunakan adalah:

No	Jenis pejantan	Warna Straw	Code
1	Brahman	Biru tua	A 206
2	FH	Abu-abu	A 207
3	Ongole	Biru muda	A 215
4	Bali	Merah	A 212
5	Madura	Hijau muda	A 220
6	Simental	Putih transparan	A 201
7	Limosin	Merah muda	A 210
8	Brangus	Hijau	A 211
9	Taurindikus	Merah anggur	A 217
10	FH Hongoria	Abu-abu	A 207

(Sudrajat, 2000).

Menurut Sudrajat (2000), kode Bull adalah kode pejantan yang digunakan sebagai penghasil semen. Kode Bull ditulis 5 angka, misalnya kode Bull pada tabel 2 diatas, adalah 39533 yang artinya adalah: 3 menunjukkan kode pejantan FH, 95 menunjukkan tahun lahir pejantan yang digunakan adalah tahun 1995, dan 33 adalah nomor urut pejantan tersebut di BIB.

## 2.4 Inseminasi Buatan

Pengembangan usaha peternakan sapi perah melalui IB dengan memanfaatkan semen pejantan unggul pada dasarnya adalah untuk memperbaiki mutu genetik ternak sehingga peningkatan kualitas dan kuantitas ternak dapat tercapai. Saat ini perkembangan peternakan secara keseluruhan di Indonesia masih banyak menghadapi kendala yang mengakibatkan produktifitas ternak rendah. Menurut Hardjopranjoto (1995), laju peningkatan populasi ternak akan lebih cepat bila efisiensi reproduksinya lebih baik.

IB adalah pemasukan atau penyimpanan semen ke dalam saluran kelamin hewan betina dengan menggunakan alat-alat buatan oleh manusia. IB juga merupakan bioteknologi dalam pengembangbiakan ternak dan merupakan cara yang paling baik dan cepat untuk menyebarluaskan bibit unggul di suatu daerah (Toelihere, 1993).

IB pada sapi dapat dilaksanakan dengan tiga metode, yaitu inseminasi vaginal, inseminasi servikal dan inseminasi rektovaginal. Inseminasi vaginal dilakukan dengan memasukkan pipa ke dalam vagina dan semen diposisikan pada mulut servik. Inseminasi servikal dilakukan dengan memasukkan spekulum steril ke dalam vagina dengan bantuan sumber cahaya dibagian kepala inseminator untuk memudahkan memasukkan alat ke dalam mulut servik. Inseminasi rektovaginal dilakukan dengan jalan memasukkan satu tangan yang bersarung tangan yang dilumuri zat pelicin ke dalam rektum sapi, kemudian alat inseminasi dimasukkan ke dalam vagina dengan bantuan tangan yang diarahkan ke servik. Metode rektovaginal memberikan angka konsepsi lebih tinggi dan volume semen

yang dibutuhkan lebih sedikit. Namun cara ini memerlukan keterampilan dan ketelitian yang tinggi (Hunter, 1995).

Ketepatan inseminasi mempunyai arti yang sangat penting serta pengamatan pada sapi yang intensif perlu dilakukan. Panjang siklus birahi sapi 17-21 hari, namun pada umumnya memperlihatkan gejala birahi hanya  $\pm$  18 jam. Sehingga pengamatan birahi untuk sapi hendaknya dilakukan 2 kali sehari yaitu pada pagi dan sore hari dengan pengamatan birahi yang seksama sehingga tanda-tanda yang sederhana pun akan terdeteksi (Toelihere, 1993).

Keberhasilan IB dengan penampungan, perlakuan dan pengolahan semen secara sempurna akan sia-sia apabila fase terakhir prosedur IB tidak dilaksanakan sebagaimana mestinya. Karena tujuan dari IB adalah membuat ternak bunting dan melahirkan pedet yang sehat dan unggul. Kebuntingan merupakan suatu proses yang didahului oleh fertilisasi yaitu suatu kejadian bergabungnya spermatozoa dan ovum menjadi zigot. Zigot akan mengalami pembelahan sehingga menjadi embrio, kemudian embrio ini mengalami implantasi pada endometrium uterus yang selanjutnya berkembang menjadi fetus (Hunter, 1995).

## **2.5 Thawing**

Untuk mempertahankan kehidupan spermatozoa maka semen beku harus selalu disimpan dalam bejana vakum atau kontainer berisi nitrogen cair yang bersuhu  $-196^{\circ}\text{C}$  dan terus dipertahankan pada suhu tersebut sampai waktu dipakai. Semen beku yang akan dipakai, dikeluarkan dari kontainer dan dicairkan kembali supaya dapat disemprotkan ke dalam saluran kelamin betina. Sesudah *thawing*,

semen beku merupakan barang rapuh dan tidak dapat tahan lama hidup seperti semen cair (*liquid semen, chilled semen*). Semen beku yang sudah dicairkan kembali tidak dapat dibekukan kembali. Oleh karena itu untuk menjamin fertilitas yang tinggi maka harus dipastikan bahwa semen yang sudah dilakukan *thawing* harus segera dipakai untuk IB (Toelihere, 1985).

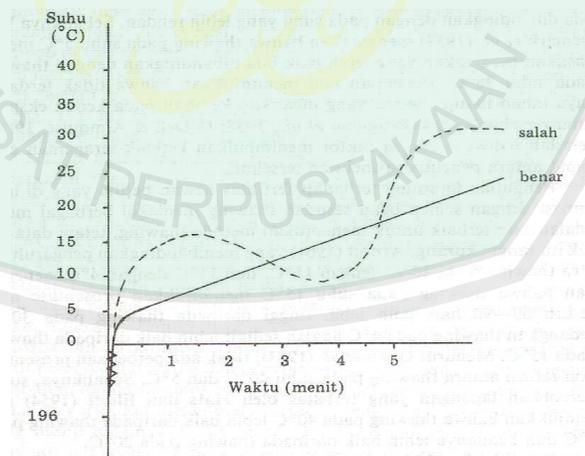
Pencairan kembali semen beku dapat dilakukan dengan berbagai cara. Apapun cara *thawing* yang dilakukan, harus berpegangan pada prinsip bahwa kurva peningkatan suhu semen harus menaik secara konstan sampai waktu IB (Gambar.2-3).

*Thawing* dilakukan dengan mengambil semen beku yang berbentuk *straw* dari *container* yang berisi nitrogen cair, langsung dicelupkan dalam air hangat dengan suhu 37°C selama 15 detik. *Straw* kemudian dikeringkan dengan handuk atau tisu dan siap pakai. Di Indonesia *thawing* dilakukan dengan air kran pada suhu 15°C-25°C selama 15 detik (Ikhsan, 1992). Menurut Zenichiro dkk (2002) bahwa *thawing* dilakukan dengan merendam semen beku dengan air hangat dengan suhu 37°C-38°C selama 7 detik dengan posisi sumbat pabrik dibagian bawah atau horizontal sehingga seluruh bagian semen beku terendam.

Semakin cepat perubahan suhu *thawing* dapat mengurangi tekanan spermatozoa dan melewati masa tidak stabil (kritis) dengan cepat, sehingga spermatozoa hidup dan normal lebih banyak. Lama pencelupan pada air *thawing* yang pendek memberikan spermatozoa yang hidup lebih maksimal. Suhu dan lama *thawing* mempunyai pengaruh besar terhadap keadaan spermatozoa khususnya keutuhan spermatozoa dalam semen. Kombinasi suhu dan lama

*thawing* yang baik adalah yang mengakibatkan sedikit kerusakan spermatozoa, sehingga tetap memiliki kemampuan membuahi ovum yang tinggi (Handiwirawan dkk, 1997).

Di Jerman Barat bagian utara, *thawing* terhadap *straw* dilakukan pada air bersuhu 34°C selama 15 detik. Terhadap ampul digunakan air bersuhu 40°C selama 35 sampai 40 detik; ampul dikeluarkan dari air, dikeringkan dan dipanaskan dalam genggaman selama 35 sampai 40 detik. Pada saat tersebut suhu ampul akan mencapai 5°C. Pada pusat IB di Neustadt an der Aisch, negara bagian Bayern, Jerman Barat bagian Selatan, untuk *thawing* ampul malah tidak dimasukkan ke dalam air hangat. Ampul semen beku diambil dan ditaruh dalam kantong baju selama peternak menyiapkan sapi betina dan inseminator menyiapkan alat-alatnya. Sesudah siap, ampul diambil dan digosok-gosokkan antara kedua telapak tangan selama  $\pm 1$  menit barulah dipakai (Toelihere, 1993).



(Gambar.2-2)

Peningkatan suhu pada semen beku sewaktu *thawing*. Suhu semen tersebut harus terus menanjak secara konstan sampai dilakukan IB kepada hewan betina. Semen beku yang naik turun sesudah *thawing* akan mematikan spermatozoa (Toelihere, 1993).

Roberts (1971) dalam Toelihere (1993) menyatakan bahwa di Amerika Serikat, *thawing* biasanya dilakukan dengan memasukkan ampul atau *straw* ke dalam air es yang bersuhu 5°C selama 5 sampai 6 menit; semen beku dalam bentuk pellet dicairkan di dalam pengencer air susu bersuhu kamar 35 sampai 40°C.

Pada pusat IB di Ungaran Jawa Tengah, *thawing* terhadap *straw* dilakukan dengan air kran dikatakan akan memberi hasil yang lebih memuaskan daripada *thawing* memakai air es walaupun tidak diberitahukan berapa lama jarak waktu *thawing* dengan pelaksanaan IB (Karyanto, 1974 dalam Toelihere, 1993).

Menurut Hafs dan Elliot (1954) dalam Toelihere (1993), *thawing* pada air bersuhu 38°C sampai 40°C menghasilkan daya tahan hidup sperma yang lebih baik bila dibandingkan dengan pada suhu rendah. Sebaliknya VanDemark *et al.* (1957) dalam Toelihere (1993) menyatakan bahwa *thawing* pada suhu 5°C menghasilkan pergerakan yang lebih baik bila dibandingkan dengan *thawing* pada suhu 38°C.

## **2.6 Uji Kualitas Semen**

### **2.6.1 Motilitas Spermatozoa**

Motilitas umumnya digunakan sebagai parameter kesanggupan membuahi (Toelihere,1985). Penilaian secara visual terhadap motilitas merupakan penilaian yang subjektif. Perkiraan secara visual dipengaruhi oleh konsentrasi semen, kecuali pada semen yang ditambah bahan pengencer lain (Partodiharjo,1992).

Energi yang digunakan untuk motilitas spermatozoa berasal dari perombakan ATP di dalam selubung mitochondria melalui reaksi-reaksi

penguraiannya menjadi ADP (*adenosin diphosphat*) dan AMP (*adenosin monophosphat*). Energi yang dihasilkan ini akan dipakai sebagai pergerakan (energi mekanik) atau sebagai biosintesis (energi kimiawi). Dalam semen terdapat empat bahan organik yang dapat dipakai secara langsung maupun tidak langsung oleh spermatozoa sebagai sumber energi untuk kelangsungan hidup dan motilitas spermatozoa. Bahan-bahan tersebut adalah fruktosa, serbitol, GPC (*glycerylphosphorylcholine*) dan plasmalogen (Toelihere,1993).

Penilaian semen berdasarkan penilaian motilitas massa dapat ditentukan sebagai berikut :

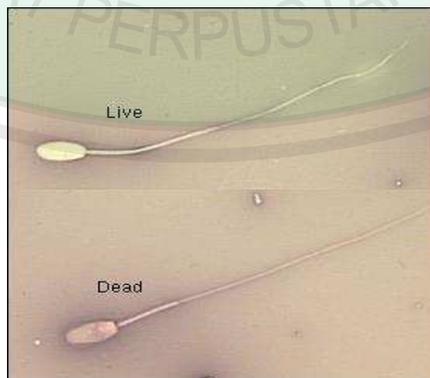
1. Sangat baik (+++), jika terlihat adanya gelombang-gelombang besar, banyak, gelap, tebal dan aktif gumpalan awan hitam dekat waktu hujan yang bergerak cepat berpindah-pindah tempat.
2. Baik (++), bila terlihat gelombang-gelombang kecil, tipis, jarang, kurang jelas dan bergerak lamban.
3. Lumayan (+), jika tidak terlihat gelombang melainkan hanya gerakan-gerakan individual aktif progresif.
4. Buruk (0), bila hanya sedikit atau ada gerakan-gerakan individual.

Penilaian gerakan individual spermatozoa menggunakan mikroskop dan melihat pola pergerakan progresif atau gerakan aktif maju ke depan merupakan gerakan terbaik. Gerakan melingkar atau gerakan mundur merupakan tanda *cold shock* atau media yang kurang isotonik terhadap semen. Gerakan berayun dan berputar-putar di tempat biasanya terlihat pada semen yang sudah tua dan apabila kebanyakan spermatozoa berhenti bergerak dan dianggap mati. Motilitas spermatozoa dipengaruhi oleh kemampuan metabolisme spermatozoa yang

ditunjang oleh lingkungan yaitu suhu dan komponen-komponen yang terdapat di dalam medium. (Toelihere,1993).

### 2.6.2. Viabilitas Spermatozoa

Salisbury and VanDemark (1985) menjelaskan penelitian yang dilakukan oleh Lasley pada tahun 1942, spermatozoa domba yang hidup dan yang mati dibedakan reaksinya terhadap zat warna tertentu, dimana spermatozoa yang motil dan hidup tidak berwarna. Suyadi dan Susilawati (1992) menambahkan bahwa kadang-kadang spermatozoa yang masih hidup akan mengambil warna sebagian dari ekor sampai setengah badan. Pengambilan zat warna oleh spermatozoa juga dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor lain seperti sekresi kelenjar asesoris, pH, suhu, kesalahan teknik pada waktu pembuatan preparat dan umur semen sesudah pengambilan semen. Vasiculae memungkinkan cairan keluar masuk sel sperma. Penyerapan warna dipengaruhi oleh kondisi membran spermatozoa yang apabila fungsi permeabilitas tidak berfungsi, maka pewarna bisa masuk tanpa terkontrol, sedangkan bila membran bagus, sperma tidak dapat menyerap warna sehingga tampak transparan. Seperti pada Gambar 2-3

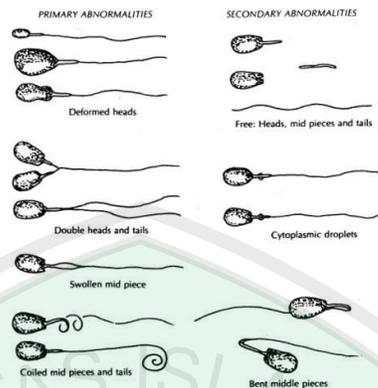


Gambar 2-3  
Spermatozoa yang menyerap warna dan yang tidak menyerap warna

### 2.6.3. Abnormalitas Spermatozoa

Kelainan bentuk dapat dilihat pada kepala, badan dan ekor spermatozoa (lihat Gambar 2-4). Beberapa peneliti mengklasifikasikan kelainan-kelainan tersebut ke dalam dua kelompok yaitu abnormalitas primer dan sekunder. Bentuk-bentuk abnormalitas primer terjadi karena kelainan-kelainan pada tubuli seminiferi dan gangguan testikuler. Abnormalitas primer ditandai oleh kepala yang terlalu kecil (*microcephalic*) atau terlalu besar (*macrocephalic*); kepala yang lebar, memanjang, berganda dan berbentuk seperti buah per (*pyriformis*); badan atau ekor berganda; pembesaran bagian tengah; ekor atau bagian tengah yang melingkar dan pertautan abaksial (Roberts, 1971 dalam Toelihere, 1993).

Abnormalitas sekunder terjadi setelah sel atau bakal sel kelamin jantan meninggalkan epitel kecambah pada tubuli seminiferi, selama perjalanannya melalui saluran epididimis dan vas deferens, selama ejakulasi dan perjalanannya melalui uretra atau manipulasi terhadap ejakulat termasuk agitasi dan pemanasan yang berlebihan, pendinginan yang terlalu cepat, karena kontaminasi dengan air, urine atau antiseptik dan sebagainya (Toelihere, 1993). Abnormalitas sekunder disebabkan gangguan setelah spermatozoa meninggalkan tubuli seminiferus, misalnya; gangguan pada proses pematangan, gangguan resorpsi, sekresi yang abnormal dari kelenjar aksesoris, gangguan mekanis, temperatur shock. Bentuk sekunder misalnya: kepala bentuk normal tapi tanpa bagian tengah atau ekor, kepala tanpa akrosom, pembekakan dari bagian tengah atau ekor yang ringan (Suyadi dan Susilawati, 1992).



Gambar 2.4  
Spermatozoa abnormal (Lindsay, 1982)

#### 2.6.4 Integritas Membran

Spermatozoa tidak mampu memperbaiki kerusakan membran sehingga membran sel harus dijaga agar tetap utuh. Evaluasi integritas membran umumnya menggunakan larutan *Hypo-Osmotic Swelling* (HOS Test) untuk membedakan selaput yang utuh dan yang mengalami kerusakan sel (Dass, 1992). Menurut Hafez (1993), pengamatan menggunakan HOS test dilakukan dengan menguji 0,1 ml semen pada 1 ml larutan fruktosa dan sodium sitrat, kemudian diinkubasi 30-60 menit pada suhu 37°C dan diamati pembengkakan ekor spermatozoa di bawah mikroskop. Uji pembengkakan dengan larutan HOS test digunakan untuk mengevaluasi kualitas spermatozoa atau identifikasi tingkat kesuburan.

Prinsip HOS test didasarkan pada pengangkutan cairan HOS ke selaput ekor sperma dibawah kondisi yang hipoosmotik. Ketidakstabilan membran dan konsentrasi ion intraseluler akan mempengaruhi integritas membran (Lechniak et al, 2002). Fosfolipid merupakan bagian integral membran yang berperan dalam

permeabilitas membran, reaksi enzim yang terdapat pada membran dan perubahan spermatozoa pada saluran reproduksi betina yaitu dalam proses kapasitasi dan fertilisasi (Yudhaningsih,2004).

Spermatozoa dapat diuji secara morfologis dengan menggunakan pengencer untuk melihat kelainan bentuk, kerusakan kepala atau ekor spermatozoa, juga untuk melihat proporsi sel yang mati dengan suatu metode tertentu agar spermatozoa yang mengalami kerusakan membran dapat menyerap suatu media tertentu (Hunter,1982). Membran spermatozoa adalah selaput yang bersifat semipermeabel. Cairan yang bersifat hipertonik dan hipotonik akan mengubah perpindahan cairan melalui selaput. Gangguan terhadap integritas sel hanya dapat terjadi pada penggunaan pengencer yang bersifat isotonik. Motilitas spermatozoa menjadi panjang ketika dilarutkan pada media isotonik (Toelihere, 1993).

## **2.7 Kajian Islam**

### **2.7.1 Sapi dalam Kajian Islam**

Sapi merupakan hewan ternak yang mempunyai banyak manfaat bagi kehidupan manusia. Allah tidak menciptakan makhluknya kemudian melantarkan mereka, tetapi memberikan hal-hal yang mereka butuhkan. Karena itu Dia menciptakan binatang ternak ini, sehingga manusia dapat meminum air susunya, makan dari dagingnya, dan membuat pakaian dari bulunya, serta sebagai alat yang dapat mempermudah kegiatannya. Sebagaimana firman Allah dalam surat An-Nahl ayat 66:

وَإِنَّ لَكُمْ فِي الْأَنْعَامِ لَعِبْرَةً ۖ نُسْقِيكُمْ مِمَّا فِي بُطُونِهِ ۚ مِنْ بَيْنِ فَرْثٍ وَدَمٍ لَبْنَا حَالًا صَافًا  
سَائِغًا لِلشَّارِبِينَ ﴿٦٦﴾

*“Dan, sesungguhnya pada binatang ternak itu benar-benar terdapat pelajaran bagi kalian. Kami memberi kalian minum dari apa yang berada dalam perutnya (berupa) susu yang bersih antara tahi dan darah, yang mudah ditelan bagi orang-orang yang meminumnya”.*

Sisi pelajaran dalam firman Allah tersebut bahwa, darah yang berasal dari makanan, dengan kekuasaan Allah berubah menjadi minuman yang baik, rasanya enak dan baik gizinya setelah diolah di dalam perutnya. Minuman ini adalah air susu. Ini merupakan bukti atas kekuasaan Dzat yang menciptakannya yang telah mengeluarkan bagi mereka antara kotoran dan darah, yakni berupa air susu yang jernih (Ash-Shabury, 2001).

### 2.7.2 Reproduksi dalam Kajian Islam

Al-Qur'an secara gamblang telah menunjukkan adanya tahapan-tahapan pertumbuhan makhluk hidup dalam rahim induknya: yaitu pembuahan oleh benda cair (sperma) yang sangat kecil dan tidak dapat dilihat oleh mata, komposisi (susunan) dari benda cair, penempatan telur di dalam rahim, perubahan menuju bentuk janin (embrio), timbulnya alat pancaindra dan organ seksual, dan sebagainya. Menurut Rahman (1999), bahwa semua petunjuk mengenai proses pembuahan telur dan pertumbuhannya melalui tahap demi tahap dalam rahim merupakan petunjuk yang jelas bahwa Nabi Muhammad diberi pengetahuan oleh Allah SWT sehingga manusia dapat menyadari dan memikirkan kedudukannya di

hadapan Allah, serta belajar untuk mendapatkan hidayah-Nya dan mengikuti jalan yang benar.

Pada masa Nabi Nuh as, segala sesuatu adalah dengan cara sederhana. Reproduksi atau perkembangbiakan ternak hanyalah suatu persoalan antara satu individu jantan dan satu individu betina untuk setiap jenis ternak. Namun dengan berkembangnya teknologi saat ini manusia telah menciptakan teknologi untuk meningkatkan mutu genetik ternak dalam rangka peningkatan populasi dan produksi ternak secara kuantitatif dan kualitatif (Toelihere, 1993).

Teknik peningkatan mutu genetik ternak salah satunya dapat ditempuh dengan Inseminasi Buatan (IB). Perbaikan mutu genetik ternak sebagai alat dalam pelaksanaan kebijakan pemuliaan secara nasional, karena cara ini dinilai lebih praktis, efisien, dan menghasilkan ternak yang unggul dengan produksi yang berkualitas dibandingkan dengan melalui perkawinan alami. Teknologi IB memungkinkan induk untuk berkembang biak atau bereproduksi tanpa adanya kontak langsung antara kedua jenis kelamin, namun tetap terjadi penyatuan dua sel gamet (Partodihardjo, 1992).

Al-Qur'an menjelaskan bahwa manusia memang diberi berbagai keistimewaan, dan dirancang untuk hidup di bumi dengan cukup. Bukan hanya disediakan bahan dasar, melainkan juga diberi ilmu pengetahuan untuk mempelajari apa-apa yang sebelumnya tidak diketahui. Bioteknologi adalah sebagian dari pemberian Tuhan Yang Maha Pemurah, yang semestinya digunakan untuk meningkatkan harkat hidup manusia yang salah satunya melalui peningkatan produksi peternakan. Dengan adanya bioteknologi, runtuhlah anggapan sebagian orang yang tidak yakin dengan doktrin Al-Qur'an tentang kesiapan dan daya dukung kehidupan di bumi untuk manusia (Bakry dkk, 1996).

### 2.7.3 Spermatozoa dalam Kajian Islam

Al-Qur'an telah menjelaskan tentang bahan dasar penciptaan makhluk hidup pada beberapa surat, salah satu ayat-ayat tersebut adalah :

حَلَقَ الْإِنْسَانَ مِنْ نُطْفَةٍ فَإِذَا هُوَ خَصِيمٌ مُّبِينٌ ﴿٤﴾

"Dia telah menciptakan manusia dari mani, tiba-tiba ia menjadi pembantah yang nyata" (QS An-Nahl : 4).

Berdasarkan ayat di atas, sel mani (نطفة) merupakan salah satu bahan dasar penciptaan makhluk hidup. Dalam ayat di atas hanya dijelaskan tentang manusia, tetapi proses reproduksi tersebut juga berlaku pada hewan karena pada dasarnya proses reproduksi pada makhluk hidup adalah bertemunya gamet jantan dengan gamet betina (Bucaille, 1997).

Menurut Bucaille (1997), *Nutfah* dibagi ke dalam 3 jenis yaitu :

1. *Nutfah* jantan atau disebut juga spermatozoa, yaitu sebuah calon makhluk hidup yang terdapat dalam mani yang dikeluarkan oleh *khasiyyah* (tempat memproduksi spermatozoa) yang dalam biologi disebut testis.
2. *Nutfah* betina atau disebut ovum, yaitu sel telur yang dikeluarkan dari *mahid* (tempat memproduksi sel telur).
3. *Nutfah* campuran atau disebut fertilized ovum, yaitu spermatozoa yang telah membuahi ovum. *Nutfah* jenis ketiga ini disebutkan dengan istilah *nutfah amsyaj*.

Menurut Bucaille (1997), bahwa *nutfah amsyaj* dapat ditafsirkan sebagai cairan jantan (spermatozoa) maupun cairan yang bercampur (embrio). Dalam Al-Qur'an secara jelas juga disebutkan bahwa kemampuan sperma untuk membuahi tidak bergantung pada volume cairan yang dikeluarkan.

### BAB III

#### METODE PENELITIAN

##### 3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial dengan dua faktor, yaitu suhu dan lama *thawing*.

##### 3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Nopember sampai Desember 2007 di Laboratorium Biologi UIN Malang.

##### 3.3 Variabel Penelitian

Variabel-variabel yang diamati adalah sebagai berikut :

- a. Variabel bebas : 1. Suhu perendaman yang terdiri dari 3 taraf yaitu; 25°C, 34°C, 37°C.  
2. Lama *thawing* terdiri 3 taraf meliputi; 7 detik, 15 detik, 30 detik.
- b. Variabel terikat : Kualitas spermatozoa meliputi: motilitas, viabilitas, abnormalitas dan integritas membran spermatozoa.
- c. Variabel kendali : Jenis semen yang digunakan adalah semen beku jenis sapi FH dengan tahun produksi 1999 dengan nomor urut pajantan 42.

### 3.4 Populasi dan Sampel

Semen beku yang digunakan dalam penelitian ini adalah semen beku sapi jenis FH yang diencerkan dengan tris aminomethan kuning telur dan berasal dari Balai Inseminasi Buatan Singosari, Malang.

### 3.5 Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat dan bahan untuk menyimpan semen beku, *thawing*, dan pemeriksaan kualitas.

#### 1. Menyimpan semen beku

Alat yang digunakan untuk menyimpan semen beku adalah termos yang telah berisi nitrogen cair.

#### 2. *Thawing*

Alat-alat yang digunakan adalah penjempit semen beku (pinset), *beaker glass* 1000 ml, *thermometer*, dan *timer*, sedangkan bahan-bahan yang digunakan adalah semen beku dan air.

#### 3. Pemeriksaan kualitas:

- a. Motilitas: objek glass, cover glass, mikroskop, ose, kertas tisu, kertas label, counter
- b. Viabilitas: pipet, objek glass, cover glass, mikroskop, ose, kertas tisu, kertas label, counter
- c. Integritas membran: tabung reaksi, tabung ukur, pipet ukur, objek glass, cover glass, mikroskop, ose, kertas tisu, kertas label, counter

### 3.6 Variabel pengamatan

#### a. Motilitas Individu Spermatozoa

Sampel semen ditetaskan diatas objec glass dan ditutup cover glass dan diamati menggunakan microscop dengan perbesaran 400 kali. Penilaian dilakukan dengan mrnghitung persentase spermatozoa yang pergerakannya progresif maju ke depan dibandingkan dengan yang tidak bergerak sebanyak  $\pm 100$  spermatozoa dengan satuan persen (Partodiharjo, 1992).

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

#### b. Viabilitas Spermatozoa

Satu tetes spermatozoa ditetaskan di atas objec glass dan ditambahkan dengan satu tetes eosin-negrosin, kemudian dibuat preparat ulas dan dikeringkan kemudian diamati  $\pm 100$  spermatozoa menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400 kali dan dihitung spermatozoa yang hidup (tidak menyerap warna) dan spermatozoa yang mati (menyerap warna) kemudian dicari persentasenya (Partodihardjo, 1992).

Spermatozoa dengan permeabilitas baik akan menghambat masuknya warna ke dalam membran sehingga tidak dapat menyerap warna (transparan), demikian juga sebaliknya. Perhitungan viabilitas dilakukan dengan mencari proporsi spermatozoa yang menyerap warna dan tidak menyerap warna.

$$\% \text{ Viabilitas Spermatozoa} = \frac{\text{jumlah spermatozoa hidup}}{\text{total spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

### c. Abnormalitas Spermatozoa

Persentase abnormalitas spermatozoa dilakukan dengan menggunakan warna yang digunakan untuk pemeriksaan persentase abnormalitas spermatozoa di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Perhitungannya adalah dengan membandingkan antara spermatozoa yang abnormal dengan spermatozoa yang normal pada luas pandang yang sama.

$$\% \text{ Abnormalitas Spermatozoa} = \frac{\text{jumlah spermatozoa abnormal}}{\text{total spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

### d. Integritas Membran Spermatozoa

0,1 ml semen yang telah dilakukan *thawing* dicampur dengan 1,0 ml larutan HOS tes, kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C, kemudian diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400 kali kemudian dihitung persentase spermatozoa bengkak diantara  $\pm 100$  spermatozoa yang diamati.

Apabila kondisi membran baik, cairan dengan tekanan osmose rendah mudah masuk dan tidak dapat keluar sehingga ekor melingkar dan menggelembung, sedangkan spermatozoa dengan membran yang jelek tidak dapat bereaksi dengan larutan hypoosmotik sehingga tidak terjadi perubahan.

$$\% \text{ Integritas Membran} = \frac{\text{jumlah spermatozoa bengkak}}{\text{total spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

## 3.7 Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisa dengan menggunakan ANOVA *two way* (Sidik Ragam dua arah). Jika hasil uji ANOVA menunjukkan pengaruh yang signifikan, untuk mengetahui suhu dan lama *thawing* yang berbeda dilakukan uji lanjut BNJ 1%.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Hasil Penelitian

Salah satu metode untuk mengetahui kualitas spermatozoa sebelum dilakukan IB adalah dengan melakukan pemeriksaan secara mikroskopis. Data hasil perhitungan pemeriksaan yang dilakukan meliputi motilitas spermatozoa, viabilitas spermatozoa, abnormalitas spermatozoa serta integritas membran spermatozoa setelah *thawing*, dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

##### 4.1.1 Motilitas Spermatozoa Semen Beku Setelah *Thawing*

Tabel 1. Rataan Motilitas Spermatozoa Semen Beku Pada Berbagai Suhu dan Lama *Thawing* dalam %

Perlakuan		Ulangan			Total	Rata-rata
Suhu <i>Thawing</i>	Lama <i>Thawing</i>	1	2	3		
25°C	7 detik	33,65	35,51	29,25	98,41	32,80
	15 detik	34,58	39,22	38,32	112,12	37,37
	30 detik	40,59	40,20	41,35	122,14	40,71
34°C	7 detik	38,89	38,18	39,64	116,71	38,90
	15 detik	42,59	42,99	44,34	129,92	43,31
	30 detik	43,81	43,27	43,93	131,01	43,67
37°C	7 detik	46,15	47,62	44,34	138,11	46,04
	15 detik	58,18	56,88	51,49	166,55	55,52
	30 detik	59,41	62,38	65,69	187,48	62,49
Total		397,85	406,25	398,35	1202,45	

Dari Tabel 1 di atas diketahui bahwa rata-rata motilitas tertinggi pada suhu 25°C adalah pada lama *thawing* 30 detik yaitu sebesar 40,71%, pada suhu 34°C adalah pada lama *thawing* 30 detik yaitu sebesar 43,67%, dan pada suhu 37°C adalah pada lama *thawing* 30 detik yaitu sebesar 62,49%. Data yang diperoleh selanjutnya diuji dengan menggunakan Analisis Variansi (ANOVA)

dengan taraf signifikansi 99%. Hasil ANOVA dengan taraf signifikansi 99% menunjukkan bahwa suhu dan lama *thawing* yang berbeda memberikan hasil yang signifikan dalam memperoleh motilitas spermatozoa yang optimal. Tabel 2 berikut ini adalah ringkasan hasil perhitungan ANOVA.

Tabel 2. Ringkasan ANOVA Pengaruh Suhu dan Lama *Thawing* terhadap Motilitas Spermatozoa Sapi FH.

SK	db	JK	KT	F <sub>hitung</sub>	F <sub>1%</sub>
Ulangan	2	4,94	2,47		
Perlak:	8	2048,56	256,07	56,28**	3,17
S	2	1502,35	751,18	165,09**	6,01
L	2	434,45	217,23	47,74**	6,01
SL	4	111,76	27,94	6,14	4,58
Galat	18	81,81	4,55		
Total	26	2135,31			

\*\*\*) berbeda sangat nyata

Dari tabel ringkasan ANOVA di atas dapat diketahui bahwa pada taraf signifikansi 99%  $F_{hit}$  Perlakuan suhu  $> F_{0,01 (2;18)}$  adalah  $165,09 > 6,01$  maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima atau ada pengaruh suhu *thawing* terhadap motilitas spermatozoa. Pada taraf signifikansi 99%  $F_{hit}$  Perlakuan lama  $> F_{0,01 (2;18)}$  adalah  $47,74 > 6,01$ , maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima atau ada pengaruh lama *thawing* terhadap motilitas spermatozoa.

Untuk mengetahui perbedaan perlakuan yang ada, maka perlu dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji BNJ pada taraf signifikansi 99% seperti pada lampiran 1. Berdasarkan hasil uji beda nyata jujur (BNJ) 1% yang sudah dikonfirmasi dengan nilai rata-rata suhu dan lama *thawing* pada semen beku sapi FH, maka didapatkan notasi BNJ seperti pada Tabel 3 di bawah ini.

Tabel 3. Ringkasan Uji BNJ 1% Dari Nilai Terendah Perbedaan Suhu dan Lama *Thawing* terhadap Motilitas Spermatozoa Sapi FH

Perlakuan		Rerata	Lambang Perlakuan
Suhu <i>Thawing</i>	Lama <i>Thawing</i>		
25°C	7 detik	32,80	a
25°C	15 detik	37,37	ab
34°C	7 detik	38,90	abc
25°C	30 detik	40,71	bcd
34°C	15 detik	43,31	bcde
34°C	30 detik	43,67	bcde
37°C	7 detik	46,04	cde
37°C	15 detik	55,52	de
37°C	30 detik	62,49	e

Notasi yang sama pada kolom di atas menunjukkan adanya pengaruh yang sama

Berdasarkan hasil uji BNJ 1% (Tabel 3) di atas menunjukkan bahwa terjadi perbedaan yang nyata pada perbedaan suhu dan lama *thawing* terhadap motilitas spermatozoa sapi FH. Hal ini berarti, dengan suhu dan lama *thawing* yang berbeda dapat mengetahui motilitas spermatozoa yang lebih optimal.

#### 4.1.2 Viabilitas Spermatozoa Semen Beku Setelah *Thawing*

Tabel 4. Rataan Viabilitas Spermatozoa Semen Beku Pada Berbagai Suhu dan Lama *Thawing* (%)

Perlakuan		Ulangan			Total	Rata-rata
Suhu <i>Thawing</i>	Lama <i>Thawing</i>	1	2	3		
25°C	7 detik	46,15	54,72	46,60	147,47	49,16
	15 detik	44,34	51,92	56,60	152,86	50,95
	30 detik	62,86	54,78	58,33	175,97	58,66
34°C	7 detik	51,82	46,15	63,55	161,52	53,84
	15 detik	55,88	69,61	67,86	193,35	64,45
	30 detik	65,00	77,88	61,54	204,42	68,14
37°C	7 detik	73,53	67,00	67,29	207,82	69,27
	15 detik	69,03	71,43	71,68	212,14	70,71
	30 detik	71,03	80,20	73,08	224,31	74,77
Total		539,64	573,69	566,53	1679,86	

Dari Tabel 4 bahwa rata-rata tertinggi hasil pengamatan pada suhu 25°C yang mempunyai viabilitas yang lebih baik adalah pada lama *thawing* 30 detik sebesar 58,66%. Pada suhu 34°C yang memiliki persentase terbesar adalah pada lama *thawing* 30 detik yakni sebesar 68,14%. Sedangkan pada suhu 37°C yang memiliki persentase terbesar adalah pada lama *thawing* 30 detik yakni sebesar 74,77%. Data yang diperoleh selanjutnya diuji dengan menggunakan Analisis Variansi (ANOVA) dengan taraf signifikansi 99%. Hasil ANOVA dengan taraf signifikansi 99% menunjukkan bahwa suhu dan lama *thawing* yang berbeda memberikan hasil yang signifikan dalam memperoleh viabilitas spermatozoa. Tabel 5 berikut ini adalah ringkasan hasil perhitungan ANOVA.

Tabel 5. Ringkasan ANOVA Pengaruh Suhu dan Lama *Thawing* terhadap Viabilitas Spermatozoa Sapi FH.

SK	db	JK	KT	F <sub>hitung</sub>	F <sub>1%</sub>
Ulangan	2	71,62	35,81		
Perlak:	8	2099,76	262,47	8,15**	3,17
S	2	1567,51	783,76	24,34**	6,01
L	2	429,58	214,79	6,67**	6,01
SL	4	102,67	25,67	0,79	4,58
Galat	18	579,56	32,20		
Total	26	2750,94			

\*\*\*) berbeda sangat nyata

Dari Tabel ringkasan ANOVA di atas dapat diketahui bahwa pada taraf signifikansi 99%  $F_{hit}$  Perlakuan suhu  $> F_{0,01 (2;18)}$  yakni  $24,34 > 6,01$ , maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima atau ada pengaruh suhu *thawing* terhadap viabilitas spermatozoa. Pada taraf signifikansi 99%  $F_{hit}$  Perlakuan lama  $> F_{0,01 (2;18)}$  yakni  $6,67 > 6,01$ , maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima atau ada pengaruh lama *thawing* terhadap viabilitas spermatozoa.

Untuk mengetahui perbedaan perlakuan yang ada, maka perlu dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji BNJ pada taraf signifikansi 99% seperti pada lampiran 2. Berdasarkan hasil uji beda nyata jujur (BNJ) 1% yang sudah dikonfirmasi

dengan nilai rata-rata suhu dan lama *thawing* pada semen beku sapi FH, maka didapatkan notasi BNJ seperti pada Tabel 6 di bawah ini.

Tabel 6. Ringkasan Uji BNJ 1% Dari Nilai Terendah Perbedaan Suhu dan Lama *Thawing* terhadap Viabilitas Spermatozoa Sapi FH

Perlakuan		Rerata	Lambang Perlakuan
Suhu <i>Thawing</i>	Lama <i>Thawing</i>		
25°C	7 detik	49,16	a
25°C	15 detik	50,96	ab
34°C	7 detik	53,84	abc
25°C	30 detik	58,66	abc
34°C	15 detik	64,45	abc
34°C	30 detik	68,14	abc
37°C	7 detik	69,27	bc
37°C	15 detik	70,71	bc
37°C	30 detik	74,77	c

Notasi yang sama pada kolom di atas menunjukkan adanya pengaruh yang sama

Berdasarkan hasil uji BNJ 1% (Tabel 6) di atas menunjukkan bahwa pada perlakuan pada suhu 37°C dengan lama *thawing* 15 detik dan 30 detik menghasilkan persentase viabilitas tertinggi.

#### 4.1.3 Abnormalitas Spermatozoa Semen Beku Setelah *Thawing*

Tabel 7 Rataan Abnormalitas Spermatozoa Semen Beku Pada Berbagai Suhu dan Lama *Thawing* (%)

Perlakuan		Ulangan			Total	Rata-rata
Suhu <i>Thawing</i>	Lama <i>Thawing</i>	1	2	3		
25°C	7 detik	33,65	31,13	34,95	99,73	33,24
	15 detik	32,08	38,46	30,19	100,73	33,58
	30 detik	29,52	32,17	31,48	93,17	31,06
34°C	7 detik	29,09	34,62	29,91	93,62	31,21
	15 detik	28,43	25,49	20,54	74,46	24,82
	30 detik	19,00	20,19	16,35	55,54	18,51
37°C	7 detik	20,59	18,00	17,76	56,35	18,78
	15 detik	17,70	16,19	20,35	54,24	18,08
	30 detik	13,08	16,83	15,38	45,29	15,10
Total		223,14	233,08	216,91	673,13	

Dari Tabel 7 bahwa rata-rata terkecil hasil pengamatan pada suhu 25°C yang mempunyai abnormalitas spermatozoa yang lebih baik adalah pada lama *thawing* 30 detik sebesar 31,06%. Pada suhu 34°C yang memiliki abnormalitas spermatozoa yang baik adalah pada lama *thawing* 30 detik yakni sebesar 18,51%. Sedangkan pada suhu 37°C yang memiliki abnormalitas spermatozoa terkecil adalah pada lama *thawing* 30 detik sebesar 15,10%. Data yang diperoleh selanjutnya diuji dengan menggunakan Analisis Variansi (ANOVA) dengan taraf signifikansi 99%. Hasil ANOVA dengan taraf signifikansi 99% menunjukkan bahwa suhu dan lama *thawing* yang berbeda memberikan hasil yang signifikan dalam memperoleh viabilitas spermatozoa. Tabel 8 berikut ini adalah ringkasan hasil perhitungan ANOVA.

Tabel 8. Ringkasan ANOVA Pengaruh Suhu dan Lama *Thawing* terhadap Abnormalitas Spermatozoa Sapi FH.

SK	db	JK	KT	F <sub>hitung</sub>	F <sub>1%</sub>
Ulangan	2	14,78	7,39		
Perlak:	8	1330,17	166,27	26,52**	3,17
S	2	1054,26	527,13	84,07**	6,01
L	2	176,62	88,31	14,08**	6,01
SL	4	99,29	24,82	3,96	4,58
Galat	18	112,85	6,27		
Total	26	1457,80			

\*\*\*) berbeda sangat nyata

Dari Tabel ringkasan ANOVA di atas dapat diketahui bahwa pada taraf signifikansi 99%  $F_{hit}$  Perlakuan suhu  $> F_{0,01 (2;18)}$  adalah  $84,07 > 6,01$ , maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima atau ada pengaruh suhu *thawing* terhadap viabilitas spermatozoa. Pada taraf signifikansi 99%  $F_{hit}$  Perlakuan lama  $> F_{0,01 (2;18)}$  yakni  $14,08 > 6,01$ , maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima atau ada pengaruh lama *thawing* terhadap abnormalitas spermatozoa.

Untuk mengetahui perbedaan perlakuan yang ada, maka perlu dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji BNJ pada taraf signifikansi 99% seperti pada lampiran 3. Berdasarkan hasil uji beda nyata jujur (BNJ) 1% yang sudah dikonfirmasi dengan nilai rata-rata suhu dan lama *thawing* pada semen beku sapi FH, maka didapatkan notasi BNJ seperti pada tabel 9 di bawah ini.

Tabel 9. Ringkasan Uji BNJ 1% Dari Nilai Terendah Perbedaan Suhu dan Lama *Thawing* terhadap Abnormalitas Spermatozoa Sapi FH

Perlakuan		Rerata	Lambang Perlakuan
Suhu <i>Thawing</i>	Lama <i>Thawing</i>		
37°C	30 detik	15,10	a
37°C	15 detik	18,08	ab
34°C	30detik	18,51	ab
37°C	7 detik	18,78	ab
34°C	15 detik	24,82	bc
25°C	30 detik	31,06	c
34°C	7 detik	31,21	c
25°C	7 detik	33,24	c
25°C	15 detik	33,58	c

Notasi yang sama pada kolom di atas menunjukkan adanya pengaruh yang sama

Berdasarkan hasil uji BNJ 1% (Tabel 9) di atas menunjukkan bahwa pada perlakuan suhu 25°C dengan lama *thawing* 7 detik, 15 detik dan 30 detik serta pada suhu 34°C dengan lama *thawing* 7 detik memiliki persentase abnormalitas yang tinggi. Dngan demikian yang memiliki persentase abnormalitas spermatozoa terendah adalah pada suhu 37°C dengan lama *thawing* 30 detik.

#### 4.1.4 Integritas Membran Spermatozoa Semen Beku Setelah *Thawing*

Tabel 10. Rataan Integritas Membran Spermatozoa Semen Beku Pada Berbagai Suhu dan Lama *Thawing* (%)

Perlakuan		Ulangan			Total	Rata-rata
Suhu <i>Thawing</i>	Lama <i>Thawing</i>	1	2	3		
25°C	7 detik	42,86	42,73	41,35	126,94	42,31
	15 detik	40,91	44,95	40,19	126,05	42,02
	30 detik	43,1	44,23	42,86	130,90	43,63
34°C	7 detik	44,04	42,45	43,52	130,01	43,34
	15 detik	48,11	50,96	47,06	146,13	48,71
	30 detik	50,48	52,34	45,37	148,19	49,40
37°C	7 detik	47,06	52,38	50,96	150,40	50,13
	15 detik	49,53	54,90	58,65	163,08	54,36
	30 detik	60,19	65,05	63,73	188,97	62,99
Total		426,99	449,99	433,69	1310,67	

Dari Tabel 10 bahwa rata-rata terbesar hasil pengamatan pada suhu 25°C yang mempunyai integritas membran spermatozoa yang lebih baik adalah pada lama *thawing* 30 detik sebesar 43,63%. Pada suhu 34°C yang memiliki integritas membran spermatozoa yang baik adalah pada lama *thawing* 30 detik yakni sebesar 49,40%. Sedangkan pada suhu 37°C yang memiliki integritas membran spermatozoa terbesar adalah pada lama *thawing* 30 detik sebesar 62,99%. Data yang diperoleh selanjutnya diuji dengan menggunakan Analisis Variansi (ANOVA) dengan taraf signifikansi 99%. Hasil ANOVA dengan taraf signifikansi 99% menunjukkan bahwa suhu dan lama *thawing* yang berbeda memberikan hasil yang signifikan dalam memperoleh viabilitas spermatozoa. Tabel 11 berikut ini adalah ringkasan hasil perhitungan ANOVA.

Tabel 11 Ringkasan ANOVA Pengaruh Suhu dan Lama *Thawing* terhadap Integritas Membran Spermatozoa Sapi FH.

SK	db	JK	KT	F hitung	F 1%
Ulangan	2	31,10	15,55		
Perlak:	8	1135,36	141,92	28,44**	3,17
S	2	807,21	403,61	80,88**	6,01
L	2	205,20	102,60	20,56**	6,01
SL	4	122,95	30,74,4,99	6,16	4,58
Galat	18	89,77			
Total	26	1256,23			

\*\*\*) berbeda sangat nyata

Dari Tabel ringkasan ANOVA di atas dapat diketahui bahwa pada taraf signifikansi 99%  $F_{hit}$  Perlakuan suhu  $> F_{0,01}(2;18)$  adalah  $80,88 > 6,01$ , maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima atau ada pengaruh suhu thawing terhadap viabilitas spermatozoa. Pada taraf signifikansi 99%  $F_{hit}$  Perlakuan lama  $> F_{0,01}(2;18)$  yakni  $20,56 > 6,01$ , maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima atau ada pengaruh lama thawing terhadap viabilitas spermatozoa.

Untuk mengetahui perbedaan perlakuan yang ada, maka perlu dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji BNJ pada taraf signifikansi 99% seperti pada lampiran 4. Berdasarkan hasil uji beda nyata jujur (BNJ) 1% yang sudah dikonfirmasi dengan nilai rata-rata suhu dan lama thawing pada semen beku sapi FH, maka didapatkan notasi BNJ seperti pada Tabel 12 di bawah ini.

Tabel 12 Ringkasan Uji BNJ 1% Dari Nilai Terendah Perbedaan Suhu dan Lama *Thawing* terhadap Integritas Membran Spermatozoa Sapi FH

Perlakuan		Rerata	Lambang Perlakuan
Suhu <i>Thawing</i>	Lama <i>Thawing</i>		
25°C	15 detik	42,02	a
25°C	7 detik	42,31	ab
34°C	7 detik	43,34	abc
25°C	30 detik	43,63	abcd
34°C	15 detik	48,71	abcd
34°C	30 detik	49,40	abcd
37°C	7 detik	50,13	bcd
37°C	15 detik	54,36	cd
37°C	30 detik	62,99	d

Notasi yang sama pada kolom di atas menunjukkan adanya pengaruh yang sama

Berdasarkan hasil uji BNJ (Tabel 12) di atas menunjukkan bahwa terjadi perbedaan yang nyata pada suhu dan lama *thawing* terhadap integritas membran. Pada perlakuan suhu 37°C dengan lama *thawing* 30 detik, memiliki persentase integritas membran yang tertinggi. Dengan demikian pada suhu dan lama *thawing* tersebut menunjukkan kualitas spermatozoa yang baik.

## **4.2 Pembahasan**

Pada penelitian ini semen beku yang digunakan adalah semen beku dari sapi FH. Penelitian ini dilakukan karena banyak pendapat mengenai berapa suhu dan lama *thawing* yang dilakukan oleh inseminator di lapangan sebelum melakukan IB. Menurut Handiwirawan dkk (1997), suhu dan lama *thawing* mempunyai pengaruh besar terhadap keadaan spermatozoa khususnya keutuhan spermatozoa dalam semen. Selama ini banyak pendapat tentang berapa suhu dan lama *thawing* yang digunakan dalam pelaksanaan IB maka dari itu, untuk mengetahui kualitas spermatozoa yang paling optimal digunakan dalam IB adalah dengan membandingkan penggunaan suhu dan lama *thawing* sebelum IB.

### **4.2.1 Integritas Membran Spermatozoa Semen Beku Setelah *Thawing***

Integritas membran adalah suatu keadaan yang menunjukkan fungsi fisiologis membran yang terjaga sebagai kontrol terhadap transport air sehingga cairan diluar sel tidak dapat memasuki sel. Untuk mengetahui integritas membran spermatozoa maka dilakukan uji Hypo-osmotic Swelling Test (HOS Test). Uji HOS adalah uji integritas fungsional membran spermatozoa yang terpapar pada

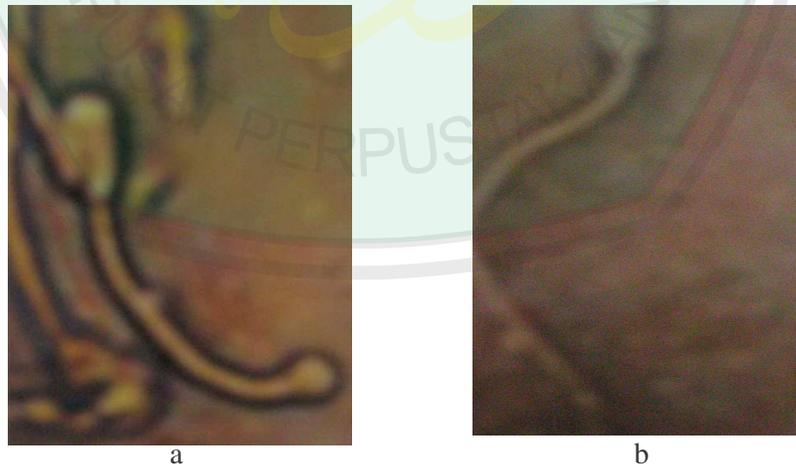
larutan hipotonis. Bila membran spermatozoa baik atau normal, maka spermatozoa akan membengkok, melingkar atau mengembung karena adanya transport air ke dalam sel spermatozoa. Masuknya air ke dalam sel spermatozoa karena adanya peristiwa osmose, dimana larutan pada uji HOS bersifat hipotonis atau mempunyai konsentrasi yang lebih rendah, sedangkan di dalam sel spermatozoa bersifat hipotonis atau konsentrasinya lebih tinggi sehingga larutan hipotonis tersebut menuju ke larutan hipertonis. Uji pembengkakan dengan larutan HOS test digunakan untuk mengevaluasi kualitas spermatozoa atau identifikasi tingkat kesuburan (Jeyendra et al, 1984 dalam Rozi, 2004).

Analisis hasil uji BNJ 1% pada suhu dan lama *thawing* yang berbeda menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Terlihat persentase integritas membran tertinggi terdapat pada semen yang dilakukan *thawing* dengan suhu 37°C selama 30 detik. Menurut Tartagni, et al (2004) menyatakan bahwa spermatozoa yang subfertil memiliki persentase spermatozoa bengkak kurang dari 50%.

Pada Tabel 12 menunjukkan bahwa pada suhu 37°C dengan lama *thawing* 30 detik memiliki nilai tertinggi dibandingkan dengan persentase yang lain yakni sebesar 62,99%. Penurunan persentase integritas membran terjadi karena adanya kerusakan membran spermatozoa. Permukaan spermatozoa dilapisi suatu membran lipoprotein yang berfungsi melindungi organel dalam sel dan sebagai filter bagi pertukaran zat baik intraseluler maupun ekstraseluler. Menurut Lechniak *et al* (2002) bahwa, ketidakstabilan membran dan konsentrasi ion intraseluler akan mempengaruhi integritas membran.

Kerusakan membran mengakibatkan terjadinya ketidakstabilan penyerapan cairan saat spermatozoa diletakkan pada medium dengan tekanan osmose rendah. HOS Test yang memiliki tekanan osmose rendah dengan mudah masuk ke dalam tubuh spermatozoa yang memiliki tekanan osmose lebih tinggi. Bila kondisi membran spermatozoa baik, cairan ke dalam sel tidak dapat keluar kembali sehingga ekor spermatozoa bengkak dan melingkar (lihat Gambar 4.5).

Membran spermatozoa adalah selaput yang bersifat semipermeabel sehingga perubahan tekanan osmose yang mendadak menyebabkan kejutan osmose yang berakibat pada penurunan viabilitas spermatozoa dan kerusakan membran. Kejutan osmose ditandai dengan melingkarnya ekor spermatozoa selama berada dalam kondisi isotonis setelah ditempatkan pada kondisi hipertonis (Yudhaningsih, 2004). Semakin banyak kerusakan pada membran spermatozoa, cairan yang bersifat hipertonik mudah keluar masuk sel dan tidak terjadi pembengkakan.



Gambar 4.5 Spermatozoa Bengkak Hasil Pengamatan pada Larutan HOS test

Keterangan: a. Spermatozoa bengkak dengan ekor melingkar  
b. Spermatozoa tidak bengkak

#### 4.2.2 Abnormalitas Spermatozoa Semen Beku Setelah *Thawing*

Abnormalitas spermatozoa merupakan penyimpangan morfologi dari kerangka normal spermatozoa. Perbedaan antara spermatozoa abnormal dan spermatozoa yang normal terbentuk pada waktu spermatogenesis dan abnormal sebagai akibat dari perlakuan semen. Menurut Toelihere (1985), umumnya semua penyimpangan morfologi dari kerangka normal dianggap sebagai bentuk tidak normal. Perbedaan antara spermatozoa yang terbentuk pada waktu spermatogenesis dengan spermatozoa abnormal akibat perlakuan suatu hal yang penting.

Dari Tabel 7 diperoleh hasil bahwa pada perlakuan suhu 34°C dengan lama *thawing* 15 detik dan 30 detik, suhu 37°C dengan lama *thawing* 7 detik, 15 detik dan 30 detik memiliki persentase abnormalitas yang masih layak untuk digunakan dalam IB. Sesuai dengan pendapat Bearden and Fuquay (1984), bahwa setiap semen yang diejakulasikan pasti mengandung beberapa spermatozoa yang abnormal morfologinya. Abnormalitas sebesar 8-10% tidak berpengaruh pada fertilitas, tetapi apabila abnormalitas melebihi 25% dari total ejakulat maka akan berpengaruh pada fertilitas. Ditambahkan oleh Partodihardjo (1998) bahwa, lebih dari 20% spermatozoa yang abnormal menunjukkan kualitas spermatozoa yang jelek. Hasil dari analisis ANOVA menunjukkan bahwa kualitas spermatozoa pada suhu 37°C dengan lama *thawing* 7 detik, 15 detik dan 30 detik serta pada suhu 34°C dengan lama *thawing* 30 detik mempunyai kualitas yang masih layak digunakan dalam IB dengan menunjukkan pengaruh tidak nyata terhadap persentase abnormalitas spermatozoa semen beku sapi FH antar perlakuan.



Gambar 4.6 Spermatozoa abnormal

Dari hasil pemeriksaan abnormalitas spermatozoa ditemukan berupa kepala tanpa ekor, ekor yang melingkar, serta kepala yang kecil. Menurut Salisbury and VanDemark (1985), bahwa abnormalitas morfologi spermatozoa diklasifikasikan pada lima kategori yaitu ekor, bentuk kepala abnormal, bentuk ekor abnormal, adanya *proximal cytoplasmic droplet*, dan *distal cytoplasmic droplet* pada ekor. Gambar 4.6 menunjukkan spermatozoa yang abnormal.

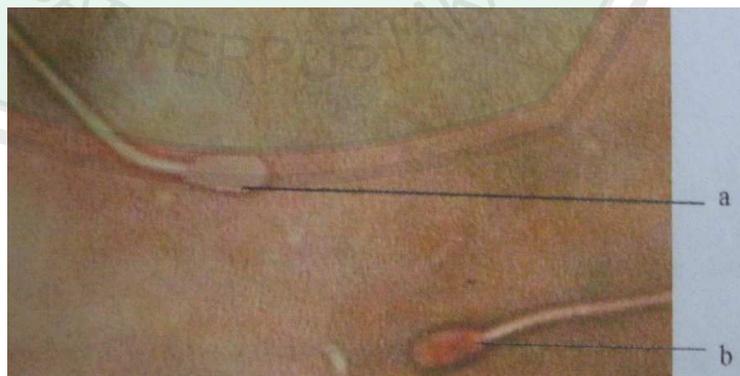
#### 4.2.3 Viabilitas Spermatozoa Semen Beku Setelah *Thawing*

Persentase viabilitas spermatozoa dapat dihitung dengan melihat reaksi spermatozoa terhadap zat warna tertentu, dimana spermatozoa yang hidup tidak berwarna sedangkan spermatozoa yang mati akan menyerap warna (Salisbury and VanDemark, 1985). Menurut Partodihardjo (1992), bahwa sel-sel yang hidup atau sedikit sekali menghisap warna sedangkan sel-sel yang mati akan mengambil warna karena permeabilitas dinding sel meninggi sewaktu mati. Perbedaan kemampuan menghisap zat warna antara sel-sel mati dan yang hidup memberi kemungkinan untuk menaksirkan jumlah spermatozoa yang hidup lebih obyektif.

Menurut Hunter (1995), bahwa zat warna eosin tidak bisa menyusup ke dalam spermatozoa hidup akibat membran plasmanya masih utuh. Spermatozoa yang terwarnai dan yang tidak terwarnai dapat dilihat pada gambar 4.7

Pada Tabel 4.2.1 persentase spermatozoa hasil pengamatan, menunjukkan hanya pada suhu 25°C dengan lama *thawing* 7 detik tidak layak untuk digunakan untuk IB, karena pada suhu dan lama tersebut, sebesar 49,16%. Menurut Toelihere (1993), menyatakan bahwa semen yang baik memiliki persentase viabilitas diatas 50%. Pada penelitian terdahulu (Yudhaningsih, 2004), menyatakan bahwa suhu yang rendah akan mengakibatkan bocornya substansi vital dalam spermatozoa sehingga enzim intraseluler, lipoprotein, ATP, kalium intraseluler dan lemak berfosfor berkurang dan menyebabkan kerusakan membran plasma sehingga persentase viabilitas menurun.

Persentase viabilitas spermatozoa berhubungan positif terhadap persentase integritas membran spermatozoa. Artinya, apabila nilai integritas membran spermatozoa banyak yang bagus, maka nilai viabilitas spermatozoa banyak pula.



Gambar 4.7 Spermatozoa yang hidup dan mati  
a. Spermatozoa hidup: warna putih  
b. Spermatozoa mati: warna merah

#### 4.2.4 Motilitas Spermatozoa Semen Beku Setelah *Thawing*

Motilitas atau daya gerak spermatozoa merupakan kemampuan gerak maju progresif spermatozoa, yang merupakan salah satu indikasi dalam menentukan kualitas spermatozoa. Daya gerak sangat dibutuhkan spermatozoa untuk mencapai tempat pembuahan saat menembus lapisan pelindung sel telur. Menurut Hafez (1993), daya fertilitas spermatozoa sangat ditentukan oleh jumlah total spermatozoa yang hidup dan bergerak aktif ke depan.

Hasil uji BNJ 1% pada perlakuan suhu dan lama thawing yang berbeda menunjukkan persentase motilitas spermatozoa dengan perbedaan nyata. Perhitungan statistik persentase motilitas spermatozoa dengan suhu dan lama thawing yang berbeda dapat dilihat pada lampiran 1.

Rataan persentase motilitas spermatozoa pada hasil pengamatan setelah thawing menunjukkan hasil yang bervariasi. Diketahui bahwa pada suhu 25oC dengan lama thawing 30 detik mempunyai gerakan yang baik yaitu aktif maju ke depan. Pada suhu 34oC pada lama thawing 30 detik juga dengan gerakan progresif yang baik. Serta pada suhu 37oC pada lama thawing 30 detik dengan gerakan yang sangat progresif. Menurut Partodiharjo (1992), spermatozoa progresif adalah spermatozoa yang bergerak kearah depan dari satu titik ke titik yang lain pada satu garis lurus.

Persentase motilitas pada suhu 25oC selama 30 detik, 34oC selama 15 detik dan 30 detik, 37oC selama 7 detik 15 detik, dan 30 detik menunjukkan bahwa spermatozoa tersebut masih layak untuk dipakai dalam IB karena sudah memenuhi ketentuan uji setelah thawing, yaitu motilitas spermatozoa setelah

thawing yang dapat digunakan untuk IB adalah sebesar  $\leq 40\%$ . Sesuai dengan pendapat Zenichiro dkk (2002), bahwa persentase spermatozoa motil setelah thawing minimal 40%.

Pada Tabel 3 menunjukkan bahwa pemeriksaan motilitas semen beku setelah *thawing* pada berbagai suhu dan lama *thawing* yang berbedadidapatkan motilitas tertinggi tercapai pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  dengan lam *thawing* 30 detik dan yang terendah pada suhu  $25^{\circ}\text{C}$  dengan lama *thawing* 7 detik. Hasil yang demikian menunjukkan bahwa suhu yang terlalu rendah dengan lama *thawing* yang terlalu cepat dapat menyebabkan kristal-kristal es belum mencair secara sempurna sehingga menghambat pergerakan sel spermatozoa secara aktif. Hal ini disebabkan karena semen beku yang akan digunakan untuk IB diambil dari *container* yang berisi  $\text{N}_2$  cair mempunyai suhu  $-196^{\circ}\text{C}$  berbentuk padatan (Handiwirawan dkk, 1997).

Ciri utama spermatozoa adalah motilitas atau daya gerakanya yang dijadikan patokan atau cara yang paling sederhana dalam penilaian semen untuk IB. Ekor spermatozoa mengandung semua sarana yang diperlukan untuk motilitas. Menurut Hunter (1995), ekor spermatozoa memberi gerak progresif kepada spermatozoa dengan gelombang-gelombang yang dimulai dari daerah implantasi ekor sampai kepala dan berjalan ke arah distal sepanjang ekor. Bagian tengah ekor merupakan tempat yang memberi energi untuk kehidupan dan pergerakan spermatozoa oleh proses-proses metabolik yang berlangsung di dalam helik mitokondria. Menurut Toelihere (1985), energi untuk motilitas spermatozoa berasal dari perombakan adenosin tripospat (ATP) di dalam mitokondria melalui

reaksi-reaksi penguraiannya menjadi *endosin diphosphat* (ADP) dan *adenosin monophosphat* (AMT). Apabila pemberian energi berupa senyawa phosphor ( $P \rightarrow P$ ) di dalam ATP dan ADP habis, maka kontraksi fibril-fibril spermatozoa akan berhenti dan spermatozoa tidak bergerak.

Hasil yang didapat dari penialian motilitas spermatozoa adalah memiliki hubungan positif dengan integritas membran spermatozoa. Integritas membran yang bagus menandakan membran spermatozoa masih berfungsi dengan baik sehingga spermatozoa motil progresif. Menurut Toelihere (1985), mitokondria spermatozoa mengandung enzim-enzim yang berhubungan dengan metabolisme eksudatif spermatozoa. Bagian ini kaya akan phospholipid, lechithin, dan plasmalogen. Plasmalogen mengandung satu aldehyd lemak dan satu asam lemak yang berhubungan dengan gliserol maupun asam phosphor atau cholin. Asam lemak dapat dioksidasi dan merupakan sumber energi endogen untuk aktifitas spermatozoa.

Motilitas spermatozoa juga berkaitan erat dengan viabilitas spermatozoa. Artinya, nilai persentase motilitas spermatozoa yang rendah akan menghasilkan nilai persentase viabilitas yang rendah. Begitu juga sebaliknya, nilai persentase motilitas spermatozoa yang tinggi akan menghasilkan nilai persentase viabilitas yang tinggi. Hal ini berarti nilai motilitas spermatozoa berpengaruh terhadap nilai viabilitas spermatozoa. Persentase motilitas spermatozoa yang tinggi mempunyai daya gerak yang progresif dan menghasilkan gerakan massa sehingga menunjukkan bahwa spermatozoa masih banyak yang hidup dan menghasilkan persentase viabilitas yang tinggi. Menurut Salisbury and VanDemark (1985),

bahwa penggunaan jumlah minimal persentase spermatozoa dan motil memiliki arti yang sangat penting, semen yang memiliki persentase motilitas spermatozoa yang rendah memiliki ketahanan hidup yang jelek.

Faktor motilitas spermatozoa juga berhubungan dengan abnormalitas spermatozoa. Hubungan yang didapat adalah hubungan negatif, artinya nilai positif pada motilitas spermatozoa yang merespon dengan nilai negatif pada abnormalitas spermatozoa. Begitu juga sebaliknya, seperti diketahui bahwa spermatozoa yang abnormal tidak dapat bergerak secara progresif sehingga mengakibatkan turunnya nilai motilitas spermatozoa.

#### **4.2 Kajian Islam Terkait Hasil Penelitian**

Permasalahan dan hasil dari penelitian ini dapat dijadikan bahan perenungan bagi orang yang berpikir. Allah SWT yang telah menciptakan manusia sebagai makhluk yang paling sempurna diantara makhluk-makhluk lainnya yang telah diberi akal untuk berfikir sehingga memiliki potensi yang besar untuk meningkatkan martabat dan kualitas hidupnya. Salah satu kelebihan pada manusia yang telah diciptakan Allah SWT adalah mengembangkan bioteknologi yang pada zaman sekarang yang sangat dibutuhkan demi kemajuan dan kemaslahatan semua.

Dalam Islam, pada prinsipnya tidak ada larangan untuk melakukan percobaan ilmu pengetahuan sepanjang teknis rincinya tidak bertentangan dengan hukum-hukum Islam. Menurut Bakry dkk (1996), bahwa penerapan bioteknologi sama sekali tidak bertentangan dengan Islam, sebaliknya memberi manfaat yang besar karena bioteknologi memiliki potensi yang besar untuk meningkatkan martabat dan kualitas hidup manusia.

Belakangan ini telah berkembang satu teknologi baru yang mampu menduplikasi makhluk hidup dengan sama persis, teknologi ini dikenal dengan nama teknologi kloning. Menurut Ma'ruf (2007), kloning pada hewan menurut syara' tidak dilarang untuk dilakukan dan termasuk aktifitas yang mubah hukumnya, karena sesungguhnya tujuan kloning pada hewan adalah untuk memperbaiki kualitas hewan, meningkatkan produktifitasnya, dan mencari obat alami bagi banyak penyakit manusia terutama penyakit-penyakit kronis guna menggantikan obat-obatan kimiawi yang dapat mengakibatkan efek samping terhadap kesehatan manusia. Kloning dilakukan dengan cara mengambil sel tubuh (sel somatik) dari tubuh bukan sel-sel kelaminnya, kemudian diambil inti selnya (nukleus), dan selanjutnya ditanamkan pada sel telur (ovum) yang telah dihilangkan inti selnya dengan suatu metode yang mirip dengan proses pembuahan atau IB. Dengan demikian, teknologi IB merupakan teknologi yang lebih baik dilakukan daripada teknologi kloning karena IB bukan teknologi untuk membuat hewan dan tidak menggantikan keberadaan hewan-hewan itu sama sekali. Dalam hal ini, IB adalah suatu alat untuk melengkapi dan menstimulasi secara revolusioner sifat-sifat hewan, akan tetapi tidak dapat menciptakan hewan.

IB merupakan suatu berkah dari Allah SWT untuk umat manusia karena sesungguhnya IB dapat digunakan untuk memenuhi kebutuhan umat manusia dalam jumlah yang sangat besar. Salah satu manfaat dari IB adalah meningkatkan kualitas hewan ternak dengan menggunakan semen beku yang berkualitas baik. Dengan bantuan bioteknologi tersebut, umat manusia dapat meningkatkan kualitas hewan ternaknya, dalam hal ini sapi perah menjadi lebih unggul dengan cara yang

lebih mudah. Dengan demikian spermatozoa sangat bermanfaat dalam proses perkembangbiakan makhluk hidup terutama pada manusia dan hewan. Sebagaimana dalam firman Allah dalam surat Abasa ayat 19 yang berbunyi:

مِنْ نُّطْفَةٍ خَلَقَهُ فَقَدَّرَهُ ﴿١٩﴾

“Dari sejumlah kecil cairan, (Tuhan) membentuknya (dalam proporsi yang tepat) lalu menentukannya”.

Adapun mengenai tahap-tahap penciptaan, seperti firman Allah dalam surat Al-Mu'minun ayat 13-14 sebagai berikut:

ثُمَّ جَعَلْنَاهُ نُطْفَةً فِي قَرَارٍ مَّكِينٍ ﴿١٣﴾ ثُمَّ خَلَقْنَا النُّطْفَةَ عَلَقَةً فَخَلَقْنَا الْعَلَقَةَ مُضْغَةً فَخَلَقْنَا الْمُضْغَةَ عِظْمًا فَكَسَوْنَا الْعِظْمَ لَحْمًا ثُمَّ أَنْشَأْنَاهُ خَلْقًا آخَرَ ﴿١٤﴾ فَتَبَارَكَ اللَّهُ أَحْسَنُ الْخَالِقِينَ ﴿١٤﴾

“Kemudian Kami jadikan saripati itu air mani (yang disimpan) dalam tempat yang kokoh (rahim). Kemudian air mani itu Kami jadikan segumpal darah, lalu segumpal darah itu Kami jadikan tulang belulang, lalu tulang belulang itu Kami bungkus dengan daging. Kemudian Kami jadikan ia makhluk yang (berbentuk) lain. Maka Maha Sucilah Allah, Pencipta Yang Paling Baik”.

Keberhasilan IB salah satunya dipengaruhi oleh ketepatan deteksi birahi karena IB hanya dapat dilakukan saat sapi tersebut dalam keadaan birahi. Birahi pada sapi dapat ditandai dengan ciri-ciri antara lain sapi gelisah, warna kemerahan dan terjadi penebalan pada vagina, nafsu makan turun bahkan hilang sama sekali. Serta timbul perilaku menaiki sapi lain dan keluarnya lendir dari alat kelamin (vulva) (Toelihere, 1993). Dengan demikian IB tidak memaksa binatang untuk berkembangbiak.

Sebelum dilakukan IB, semen beku harus dilakukan *thawing* terlebih dahulu untuk mencairkan kembali semen yang telah beku karena semen sebelumnya diletakkan di kontainer yang mempunyai suhu  $-196^{\circ}\text{C}$ . Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kombinasi suhu dan lama *thawing* mempunyai pengaruh terhadap kualitas spermatozoa yang akan dilakukan IB. Hal ini ditunjukkan dengan perbedaan rata-rata hasil *thawing* dengan suhu dan lama *thawing* yang berbeda yaitu pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  dengan lama *thawing* 30 detik merupakan suhu dan lama *thawing* yang optimal digunakan dalam IB.

Adanya hasil penelitian di atas semakin memperkuat bahwasanya Allah SWT telah menciptakan segala sesuatu tanpa ada yang sia-sia. IB juga ternyata terbukti bermanfaat untuk kesehatan hewan ternak, karena IB dapat mencegah penularan penyakit yang dapat menyebabkan keguguran karena IB tidak terjadi kontak langsung dan semen telah diolah dengan penambahan antibiotika yang dapat mencegah pertumbuhan kuman sehingga kemungkinan terjadinya keguguran kecil dibandingkan dengan perkawinan alami yang rentan terhadap keguguran (Toelihere, 1993).

Hasil dari penelitian ini juga memberikan pelajaran bahwasanya manusia hendaknya tidak bersikap putus asa dalam menghadapi suatu penyakit. Tetapi, manusia sebagai makhluk yang diberi akal, seharusnya terus menggali hikmah-hikmah yang diberikan oleh Allah SWT melalui berbagai ciptaanNya dalam jagat raya ini. Jika pada penelitian ini telah terbukti bahwasanya IB mampu mencegah timbulnya suatu penularan penyakit.

Dari penjelasan di atas, dapat diambil pelajaran bahwasanya manusia harus senantiasa menjaga kesehatan hewan ternak mereka yang telah diberikan Allah SWT. Namun, ketika hewan ternak tertimpa suatu penyakit, manusia tidaklah boleh putus asa, karena menurut Nabi Muhammad segala penyakit pasti ada obatnya. Salah satu cara untuk pencegahan penyakit tersebut adalah melalui IB.

Menurut Al-Qardhawy (1998) Sunnatullah menetapkan adanya penularan suatu penyakit. Dalam hal ini Allah menyuruh kita untuk menghindari, menjauhi, dan menjaga dari berbagai bentuk penyakit yang dapat menular. Bahkan persoalan ini juga menyangkut penyakit hewan yang terbatas akal nya. Rasulullah bersabda:

لَا يُورَدَنَّ مُمْرَضٌ عَلَى مُصِحٍّ (متفق عليه)

*“Orang yang mempunyai unta yang sakit jangan mendatangi orang yang memiliki unta yang sehat”*

Oleh karena itu, manusia hendaknya selalu bersyukur atas berbagai nikmat yang telah diberikan oleh Allah SWT, salah satu cara mensyukuri nikmat Allah tersebut dengan memanfaatkan segala nikmat dengan bijaksana. Selain itu, sesungguhnya di dalam Al-Qur'an dan As-Sunnah telah terkandung berbagai informasi yang bisa digali dan digunakan manusia dalam menyingkap kebenaran dari berbagai realitas yang ada.

## BAB V

### KESIMPULAN

#### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil pembahasan di atas, maka dapat disimpulkan bahwa suhu dan lama *thawing* yang berbeda memberi pengaruh terhadap kualitas spermatozoa semen beku. Suhu dan lama *thawing* yang paling optimal terdapat pada perlakuan suhu 37°C dengan lama *thawing* 30 detik.

#### 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian dapat dikemukakan beberapa saran sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian yang serupa dengan suhu dan lama *thawing* yang berbeda dengan penelitian tersebut, sehingga dapat diketahui adanya kualitas spermatozoa maksimum yang dapat mengoptimalkan dalam pelaksanaan IB.
2. Perlu dilakukan penelitian yang serupa dengan spermatozoa sapi yang berbeda.
3. Sebagai sarana pelaksanaan IB, peneliti menganjurkan pelaksanaan *thawing* dilakukan pada suhu 37°C dengan lama 30 detik.

## DAFTAR PUSTAKA

- Al-Qardhawy, Yusuf. 1998. *As-Sunnah sebagai Sumber Iptek dan Peradaban*. Pustaka Al-Kautsar. Jakarta
- Ash-Shabury, M. Ali. 2001. *Cahaya Al-Qur'an 4*. Pustaka Al-Kautsar. Jakarta
- Bakry, Nurchalis, M, dkk. 1996. *Bioteknologi dan Al-Qur'an Referensi Dakwah Da'i Modern*. Gema Insani Press Penerbit Buku Andalan. Jakarta
- Bearden, H.J, and Fuquay, J,W. 1984. *Applied Animal Reproduction*. 2<sup>th</sup> Edition. Reston Pubblising Company Inc. A Practice Hall Company. Reston. Virginia
- Bucaille, Maurice. 1997. *Asal-Usul Manusia Menurut Bibel, Al-Qur'an, SAINS*. Penerbit MIZAN Anggota IKAPI. Bandung
- Hafez, E. 1993. *Reproduction in farm animals*. 5<sup>th</sup> Edition. Lea and Febiger. Philadelphia
- Hardjopranjoto, S. 1995. *Ilmu Kemajiran pada Ternak*. Airlangga. University Press.Surabaya
- Harjoyo, S. 1996. *Kawin Suntik Hasilkan Anak Sapi Berkualitas*. (online). (<http://www.deptan.go.id/puspitnak/isi/puspitnak.htm>, diakses 22 September 2007)
- Hermawanto dan Hadiwidjaja. 2002. *Analisis sperma pada Infertilisasi Pria* (online). (<http://www.tempo.co.id/medika/arsip/102002/pus-3.htm>. diakses 22 september 2007)
- Hunter, R.H.F. 1995. *Fisiologi dan Teknologi Reproduksi Hewan Betina Domestik*. ITB. Bandung
- Ihsan, M.N. 1992. *Inseminasi Buatan*. LUW. Universitas Brawijaya. Malang
- Lindsay, dkk. 1982. *Reproduksi Ternak di Indonesia*. Fakultas Peternakan dan Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang
- Ma'ruf, Farid. 2007. *Hukum Kloning*. (online). <http://konsultasi.wordpress.com> diakses 01 maret 2008
- Partodiharjo, S. 1992.. *Fisiologi Reproduksi Hewan*. Mutiara Sumber Widya. IPB. Bogor.
- Rahman, Afzalur. 2000. *Al-Qur'an Sumber Ilmu Pengetahuan*. Rineke Cipta. Jakarta

- Rozi, Bahrur. 2004. *Motilitas Spermatozoa Sapi Madura pada Suhu dan Interval Waktu yang Berbeda dan Hubungan antara Motilitas dengan Viabilitas, Abnormalitas dan Integritas Membran*. Skripsi. Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya. Malang
- Salisbury, G.W and VanDemark. 1985. *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi*. Gajah Mada. University. Press. Yogyakarta
- Syarif, Zein dan Sumoprastowo. 1985. *Ternak Perah*. CV. Yasaguna. Jakarta
- Sudrajad, 2000. *Prosedur Tetap (Protap) Produksi dan Distribusi Semen Beku*. <http://bitnak.ditjenak.deptan.go.id> (online), diakses 01 januari 2008
- Suyadi dan Susilawati. 1992. *Pengantar Fisiologi Reproduksi*. LUW Animal Husbandry Project Universitas Brawijaya. Malang
- Toelihere, M, R. 1985. *Fisiologi Reproduksi pada Ternak*. Fakultas Kedokteran Hewan. IPB. Penerbit Angkasa. Bandung
- \_\_\_\_\_. 1993. *Inseminasi Buatan pada Ternak*. Fakultas Kedokteran Hewan. IPB. Penerbit Angkasa. Bandung
- Widodo. Intan S. 2004. *Pengaruh Kecepatan Sentrifugasi terhadap Motilitas, Viabilitas, Integritas Membran, dan Resistensi Spermatozoa Sapi Fries Hooland Post Thawing*. Skripsi. Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya. Malang
- Yudhaningsih, H. 2004. *Kualitas dan Integritas Membran Spermatozoa Sapi Madura Menggunakan Motilitas dan Pengencer yang Berbeda Selama Proses Pembekuan Semen*. Skripsi. Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya. Malang
- Zenichiro dkk. 2002. *Intruksi Praktis Teknologi Prosesing Semen Beku pada Sapi*. Balai Besar Inseminasi Buatan Singosari- JICA. Malang