

PENGARUH LAMA EKUILIBRASI PADA PROSES PEMBEKUAN TERHADAP KUALITAS SEMEN SAPI WAGYU MENGGUNAKAN PENGENCER ANDROMED®

Hirzi Hanifi¹⁾, Moh. Nur Ihsan²⁾ dan Trinil Susilawati²⁾

1) Mahasiswa S1 Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya,

2) Dosen Bagian Produksi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya.

Email: trinil_susilawati@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama ekuilibrasi semen sapi *Wagyu* terhadap kualitas semen dan untuk mengetahui pengaruh individu sapi *Wagyu* terhadap kualitas semen pada lama ekuilibrasi yang berbeda. Materi yang digunakan berupa semen segar sapi *Wagyu* yang berasal dari 9 kali proses penampungan dari 3 ekor sapi. Proses penampungan dilakukan 1 kali seminggu setiap sapi dengan menggunakan vagina buatan. Sapi dipelihara dengan manajemen yang baik di unit pembibitan PT. Austasia Stockfeed. Semen segar yang digunakan memiliki nilai rata-rata persentase motilitas individu 75% dan motilitas massa 3+. Pengencer yang digunakan adalah Andromed®. Metode penelitian ini eksperimental laboratorium dengan 3 perlakuan dan 10 ulangan. Perlakuan yang diberikan tiga rentang waktu lama ekuilibrasi semen dengan P1 (3 jam 30 menit), P2 (4 jam), dan P3 (4 jam 30 menit). Variabel yang diamati diantaranya persentase motilitas individu, pada saat sebelum pembekuan (*before freezing*) dan setelah pembekuan (*post thawing*) serta total spermatozoa motil (TSM). Analisis data menggunakan analisis ragam, dan rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) tersarang dua tahap. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perbedaan lama ekuilibrasi (P1, P2, dan P3) tidak memberikan pengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap persentase motilitas individu spermatozoa sapi *Wagyu*. Perbedaan individu *bull* sapi *Wagyu* memberikan pengaruh terhadap kualitas semen *before freezing* dan *post thawing*. Individu *bull* 1 memiliki nilai persentase kualitas spermatozoa terbaik dengan nilai persentase motilitas individu spermatozoa *before freezing* dan *post thawing* dengan nilai $61,67\pm 2,50\%$ dan $35,51\pm 7,71\%$. Total spermatozoa motil terbaik pada lama ekuilibrasi 4,5 jam (P3) $14,0\pm 1,0$ juta spermatozoa/straw.

Kata kunci: kualitas semen, motilitas individu, *post thawing*

ABSTRACT

This studies aimed to know the effect of equilibration time of *Wagyu* cattle semen on the semen quality and to determine the influence of individuals on the quality of *Wagyu* cattle semen on different equilibration time. The material used in the form of *Wagyu* cattle fresh semen was derived from 9 times collecting process from 3 bulls. The collection process conducted one time a week for each bull by using an artificial vagina. All bulls are maintained by good management in PT. Austasia Stockfeed breeding unit. Fresh semen that was used had average value of individual motility percentage of 75% and the mass motility 3+. The diluent used was AndroMed®. This research method is experimental laboratory with 3 treatments and 10 repetition. The treatments were three long equilibrations time span with P1 (3 hours 30

minutes), P2 (4 hours), and P3 (4 hours 30 minutes). The observed variables include the percentage of individual motility at the time before freezing and after freezing and total motile spermatozoa (TMS). Data analysis used analysis of variance and design used was a randomized block design nested two stages. The results of this study indicates that the equilibration time difference (P1, P2, and P3) no significant effect ($P > 0.05$) to percentage of individual motility of spermatozoa in Wagyu cattle. Wagyu cattle bull individual differences influence on semen quality before freezing and post thawing. Bull 1 has the best quality of spermatozoa percentage value with the value of the percentage of individual motility spermatozoa before freezing and post thawed with the value $61.67 \pm 2.50\%$ and $35.51 \pm 7.71\%$. Total motile spermatozoa best on equilibration time 4.5 hours (P3) of 14.0 ± 1.0 million spermatozoa/straw.

Key words : semen quality, individual motility, post thawing

PENDAHULUAN

Proses pembibitan sapi *Wagyu* di Indonesia hanya ada satu perusahaan peternakan yang melakukannya, yakni PT. Austasia Stockfeed yang merupakan anak perusahaan PT. Santosa Agrindo. Proses pembibitan yang dilakukan dengan Inseminasi Buatan (IB) menggunakan semen beku sapi *Wagyu* impor maupun memproduksi sendiri semen beku. Labetubun dan Siwa (2011) menjelaskan bahwa upaya meningkatkan produktivitas ternak dan mengatasi keterbatasan jumlah pejantan unggul dapat dilakukan dengan meningkatkan mutu genetik ternak melalui program IB.

Kegiatan IB yang dilakukan di perusahaan peternakan ini didukung dengan semen beku yang diproduksi sendiri. Dalam produksi semen beku ada beberapa hal penting yang sangat mempengaruhi kualitas yang akan dihasilkan, diantaranya adalah proses pembekuan. Pada proses ini terjadi titik kritis suhu pada spermatozoa untuk bertahan hidup akibat *cold shock*. Yusuf, Arifiantini, dan Mulyadi (2006) menyatakan bahwa keberhasilan dalam IB pada ternak dipengaruhi beberapa faktor, diantaranya adalah kualitas semen cair ataupun semen beku yang digunakan. Sehingga perlu dilakukan perlindungan

terhadap spermatozoa yang akan dibekukan. Menurut Kusumaningrum, Situmorang, Setioko, Sugiarto, Triwulaningsih, dan Sianturi (2012) dalam proses pembekuan sel ditambahkan krioprotektan dan yang paling umum digunakan pada mamalia adalah gliserol.

Spermatozoa diadaptasikan dengan gliserol pada suhu dingin ($3-5^{\circ}\text{C}$). Proses ini dikenal juga dengan ekuilibrisasi. Penambahan gliserol dalam pengencer melindungi spermatozoa terhadap efek-efek lethal selama proses pembekuan serta dapat memodifikasi kristal-kristal es yang terbentuk dalam medium sewaktu pembekuan, sehingga mampu menghambat kerusakan mekanis membran sel spermatozoa pada waktu penurunan suhu (*cooling rate*) (Mumu, 2009). Spermatozoa dibiarkan dalam suhu 5°C selama 2 hingga 6 jam agar bisa menyeimbangkan cairan intraseluler dengan *diluter* yang mengandung gliserol sebelum proses pembekuan dimulai (ekuilibrisasi) (Novianto, Sudarno dan Masithah, 2014). Berlandaskan uraian di atas perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh lama ekuilibrisasi terhadap kualitas semen beku yakni motilitas individu setelah dicairkan kembali (*post thawing motility*) pada spermatozoa sapi *Wagyu* di PT. Austasia Stockfeed sebagai upaya

memperbaiki proses produksi semen beku sapi *Wagyu* dalam rangka perbaikan mutu genetik untuk proses pembibitan melalui IB yang lebih baik.

MATERI DAN METODE

Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Reproduksi PT. Austasia Stockfeed unit pembibitan Dusun Bawang Kijang, Desa Negara Batin, Kecamatan Jabung, Kabupaten Lampung Timur.

Materi

Materi yang digunakan dalam penelitian ini berupa semen segar pejantan unggul terlatih sapi *Wagyu* yang berasal dari 9 kali proses penampungan dari 3 ekor sapi. Proses penampungan semen dilakukan 1 kali setiap minggu per individu sapi dengan menggunakan metode penampungan vagina buatan. Semen segar yang didapatkan memiliki rata-rata persentase motilitas individu 75% dan motilitas massa 3+. Pengenceran semen menggunakan pengencer komersial yaitu Andromed®.

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorium dengan mengumpulkan data primer yang dilakukan dengan cara pengujian secara langsung oleh peneliti dan laboran. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) tersarang dua tahap. Proses penampungan semen dilakukan setiap seminggu sekali untuk masing-masing pejantan dengan hari yang berbeda. Proses setelah penampungan dilakukan evaluasi semen segar secara makroskopis dan mikroskopis. Semen yang telah memenuhi syarat langsung diencerkan menggunakan pengencer Andromed®, dan selanjutnya dilakukan proses ekuilibrasi sesuai dengan perlakuan penelitian. Selama

ekuilibrasi dilakukan pengamatan kualitas spermatozoa sebelum dilakukan pembekuan (semen cair).

Tahapan akhir yaitu melakukan *thawing* dengan menggunakan air hangat bersuhu 37-38°C. Selanjutnya dilakukan pengamatan kualitas spermatozoa pasca *thawing*. Pengumpulan data dilakukan setiap tahap evaluasi kualitas spermatozoa. Data yang diperoleh yaitu motilitas semen sebelum pembekuan dan setelah diencerkan kembali (*post thawing*) berupa motilitas individu spermatozoa dengan perlakuan 3 rentang waktu lama ekuilibrasi semen, yaitu 3 jam 30 menit (P1), 4 jam (P2), dan 4 jam 30 menit (P3) dari masing-masing semen ketiga pejantan unggul terlatih.

Pengenceran dilakukan dengan menggunakan rumus:

Pengenceran semen =

$$\frac{Vol. \text{semen} \times 0,5 \times \% \text{Motilitas in, ividu} \times \text{Konsentra semen} \times 10^6}{35 \times 10^6}$$

Pemeriksaan Kualitas Semen Segar

Pemeriksaan makroskopis

Pemeriksaan makroskopis meliputi:
1)pH: pH semen diukur dengan menggunakan kertas pH (Tambing, Toelihere, Yusuf, Purwantara, Sutarna, dan Situmorang, 2003). 2)Warna: Pemeriksaan semen dilakukan dengan cara dilihat langsung pada tabung, dengan semen yang normal berwarna putih susu dan krem (Adhyatma, Isnaini, dan Nuryadi, 2013). 3)Bau: Semen sapi memiliki bau khas spermatozoa (Solihati, Idi, Rasad, Rizal, dan Fitriati, 2008). 4)Konsistensi: Konsistensi semen diperiksa dengan cara memiringkan tabung yang berisi semen secara perlahan-lahan, dengan semen yang baik derajat kekentalannya akan bergerak sangat lambat mengikuti kemiringan tabung penampung (Mumu, 2009). 5)Volume: Volume semen yang diejakulasi langsung terbaca pada tabung penampung

berskala dan dinyatakan dalam ml per ejakulasi (Mumu, 2009).

Pemeriksaan mikroskopis

Motilitas massa

Motilitas massa diamati menggunakan mikroskop cahaya tanpa *cover glass* dengan perbesaran 100X dengan kriteria penilaian gerak massa spermatozoa yakni: 1) sangat baik (+++) terlihat adanya gelombang besar, banyak, gelap, tebal, dan aktif seperti gumpalan awan ketika mendung yang bergerak cepat berpindah tempat; 2) baik (++) bila terdapat gelombang-gelombang kecil tipis, jarang, kurang jelas dan bergerak lamban; 3) kurang baik (+), jika tidak terlihat gelombang melainkan hanya berupa gerakan-gerakan individual yang aktif dan progresif; dan terakhir 4) buruk (0) jika hanya sedikit ada gerakan-gerakan individual (Susilawati, 2011^b).

Motilitas individu

Motilitas individu diamati dengan menggunakan mikroskop binokuler dengan perbesaran 400X, dan pengamatan dilakukan terhadap jumlah spermatozoa motil progresif dari satu lapangan pandang dan dinyatakan dalam persen (Winarto dan Isnaini, 2008).

Konsentrasi

Penilaian konsentrasi dilakukan dengan jalan menghitung jumlah spermatozoa yang ada menggunakan

haemocytometer yaitu dengan cara semen segar dihisap dengan pipet eritrosit sampai pada skala 0,5 kemudian larutan NaCl 3% dihisap sampai pada skala 101, hal ini mengencerkan sekaligus membunuh spermatozoa. Selanjutnya campuran ini dikocok dengan hati-hati membentuk angka delapan selama 2-3 menit, selanjutnya beberapa tetes dibuang dan satu tetes ditempatkan pada kamar hitung *neubeur* lalu ditutup *cover glass* (Mumu, 2009). Kisaran konsentrasi semen pada sapi 2×10^8 spermatozoa/ml pada pejantan muda dan $1,8 \times 10^9$ spermatozoa/ml pada pejantan dewasa (Susilawati, 2013).

Persentase Post Thawing Motility

Semen beku dithawing pada suhu 37°C kemudian spermatozoa diamati motilitasnya menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400X (Arifiantini, Yusuf, dan Graha, 2005)

Total Spermatozoa Motil

Hasil total spermatozoa diperoleh dengan cara mengalikan persentase motilitas individu dengan total spermatozoa (Nyuwita, Susilawati, dan Isnaini, 2015).

Analisa Statistik

Data yang diperoleh dianalisa menggunakan *analysis of variant* (ANOVA), jika terdapat perbedaan yang nyata dilanjutkan dengan Uji Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kualitas Semen Segar

Semen segar yang diperoleh dari 3 ekor pejantan unggul sapi *Wagyu* ini dievaluasi dalam menentukan kelayakan untuk diproduksi menjadi semen beku. Evaluasi semen segar ini meliputi kualitas makroskopis seperti volume, warna,

konsistensi, dan pH. Selanjutnya dilakukan evaluasi kualitas semen mikroskopis meliputi motilitas massa, motilitas individu, viabilitas, abnormalitas, dan konsentrasi. Rataan dan simpangan baku (sd) dari hasil pengamatan semen segar pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Data Pejantan dan Rata-rata Kualitas Semen Segar Sapi *Wagyu* yang Digunakan dalam Penelitian

Parameter	Rataan \pm sd		
	<i>Bull 1</i>	<i>Bull 2</i>	<i>Bull 3</i>
Kondisi Umum			
Umur (tahun)	8	8	8
Bobot Badan (kg)	1.016,83	886,71	736,47
Makroskopis			
Volume per ejakulat (ml)	8 \pm 0	10 \pm 1,80	8,83 \pm 3,88
Warna	Putih susu	Putih susu	Putih susu
Konsistensi	Sedang-kental	Sedang	Sedang
pH	6,47 \pm 0,12	6,40 \pm 0	6,33 \pm 0,12
Mikroskopis			
Motilitas Massa	+++	++	+++
Motilitas Individu (%)	75,00 \pm 5,00	73,33 \pm 2,89	76,67 \pm 2,89
Viabilitas (%)	93,96 \pm 3,82	90,73 \pm 1,68	93,46 \pm 0,67
Abnormalitas (%)	5,85 \pm 0,80	7,04 \pm 4,07	4,46 \pm 1,82
Konsentrasi (juta/ml)	1.726,70 \pm 676,56	1.403,30 \pm 317,70	1.486,67 \pm 234,60

Volume semen segar yang diperoleh dari masing-masing individu sapi berbeda-beda. Rataan dari volume semen per ejakulat yang digunakan pada penelitian ini secara berurutan yakni *bull 1* (8 \pm 0 ml), *bull 2* (10 \pm 1,80 ml), dan *bull 3* (8,83 \pm 3,88 ml). Semen segar sapi *Wagyu* pada penelitian ini termasuk normal untuk sapi tipe pedaging. Zamuna, Susilawati, Ciptadi, dan Marjuki (2015) menyatakan untuk volume semen segar sapi tipe pedaging dari bangsa *Bos taurus*, sapi Limousin 7,2 \pm 1,30 ml dan sapi Simental 6,8 \pm 1,6 ml. pH semen dari ketiga individu sapi pada penelitian ini antara lain *bull 1* (6,47 \pm 0,12), *bull 2* (6,40 \pm 0), dan *bull 3* (6,33 \pm 0,12). pH normal pada sapi perah maupun pedaging berkisar antara 6,5-7,0 (Bearden, Fuquay, Willard, 2004). Semen sapi *Wagyu* yang digunakan dalam penelitian ini memiliki konsistensi (tingkat kekentalan) yang sama untuk *bull 2* dan *3* yang memiliki konsistensi sedang,

sedangkan semen dari *bull 1* memiliki konsistensi sedang hingga kental. Adhyatma, dkk. (2013) bahwa pemeriksaan konsistensi dilakukan dengan melihat angka konsentrasi semen dengan standar perhitungan < 1000 encer, 1000-1500 sedang, dan > 1500 pekat (kental), dengan demikian konsistensi semen segar sapi *Wagyu* pada penelitian ini tergolong normal.

Motilitas massa semen yang digunakan dalam penelitian ini adalah +++ untuk *bull 1* dan *3*, sedangkan untuk *bull 2* ++. Menurut Arifiantini, Yusuf, dan Graha (2005) gerakan massa spermatozoa pada penelitiannya berkisar antara ++ sampai +++ dan ini sudah memenuhi standar. Rataan untuk persentase motilitas individu spermatozoa dari masing-masing semen segar pejantan sapi *Wagyu* yang digunakan dalam penelitian ini yakni *bull 1* (75 \pm 5,00 %), *bull 2* (73,33 \pm 2,89 %), dan *bull 3* (76,67 \pm 2,89 %). Rataan persentase viabilitas semen segar yang digunakan dalam penelitian ini adalah 93,96 \pm 3,82 % untuk *bull 1*, 90,73 \pm 1,68 % *bull 2*, dan

93,46 ± 0,67 % *bull* 3. Rata-rata persentase abnormalitas semen segar yang digunakan dalam penelitian ini dari setiap pejantan antara lain *bull* 1 (5,85 ± 0,80 %), *bull* 2 (7,04 ± 4,07 %), dan *bull* 3 (4,46 ± 1,82 %). Rata-rata konsentrasi semen segar sapi *Wagyu* yang digunakan dalam penelitian ini dari setiap individu pejantan yakni *bull* 1 (1.726,70 ± 676,56 juta/ml), *bull* 2 (1.403,30 ± 317,70 juta/ml), dan *bull* 3 (1.486,67 ± 234,60 juta/ml).

Pengaruh Perbedaan Individu *Bull* terhadap Kualitas Semen *Before Freezing* dan *Post Thawing* Persentase Motilitas Individu

Hasil analisis ragam motilitas individu spermatozoa pada semen sapi *Wagyu*, menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata ($P < 0,05$) antar individu yang berbeda. *Bull* 1 menunjukkan respon berbeda dengan *bull* 2, namun tidak menunjukkan pengaruh yang berbeda dengan *bull* 3. Adapun nilai motilitas individu *bull* 1, 3 dan 2 secara berturut-turut yaitu 61,67 ± 2,50%, 58,33 ± 5,00% dan 55,00 ± 0,00% pada pengamatan *before freezing*. Hasil ini masih tergolong cukup baik, walaupun masih di bawah hasil penelitian Komariah, Arifiantini, dan Nugraha (2013) untuk rata-rata nilai motilitas spermatozoa *before freezing* beberapa bangsa sapi yakni sapi Simmental 65,12 ± 5,53%, sapi Limousin 63,44 ± 3,22%, dan sapi FH 63,12 ± 3,53%. Sesuai dengan pernyataan Salim, Susilawati, dan Wayuningsih (2012) bahwa bangsa dan spesies ternak yang berbeda menghasilkan semen yang berbeda pula.

Hasil pengamatan *post thawing* untuk persentase motilitas individu spermatozoa juga terdapat perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) antar individu yang berbeda. *Bull* 1 juga menunjukkan respon

yang berbeda dengan *bull* 2, namun *bull* 2 tidak menunjukkan pengaruh yang berbeda dengan *bull* 3. Adapun nilai motilitas individu *bull* 1 35,51 ± 7,71%, *bull* 2 sebesar 25,05 ± 4,39%, dan *bull* 3 sebesar 30,09 ± 4,12%. Hasil ini lebih rendah dari hasil penelitian Komariah, dkk. (2013) untuk motilitas spermatozoa PTM pada tiga bangsa sapi yang berbeda yakni sapi Limousin (44,06 ± 3,46%), sapi Simmental (44,69 ± 2,98%), dan sapi FH (42,97 ± 2,98%).

Adanya perbedaan yang nyata antara ketiga individu *bull* pada penelitian ini dengan bangsa yang sama, manajemen pemeliharaan yang sama sesuai dengan pernyataan Sukmawati, Arifiantini, dan Purwantara (2014) bahwa setiap individu memiliki kualitas spermatozoa yang berbeda meskipun dipelihara dengan sistem dan manajemen pakan yang seragam, hal ini berkaitan dengan kondisi masing-masing individu seperti kualitas organ reproduksi yang akan mempengaruhi kualitas semen. Sedangkan adanya respon yang tidak berbeda antara *bull* 1 dengan *bull* 3 diduga karena adanya pengaruh genetik dari tetua kedua *bull* ini. *Bull* 1 dan 3 merupakan keturunan dari tetua pejantan (*sire*) yang sama yaitu *Westholme Hayabusa* C0642. Hasil penelitian Garmyn, Moser, Christmas, and Borman (2011) menunjukkan bahwa terdapat korelasi antara lingkaran skrotum yang berpengaruh terhadap kualitas semen dari tetua pejantan yang akan diwariskan ke keturunannya. Nilai rata-rata persentase motilitas individu spermatozoa pada individu *bull* yang berbeda baik pada saat pengamatan *before freezing* maupun *post thawing* disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Rataan Persentase Motilitas Individu Spermatozoa pada Individu Bull yang Berbeda

Bull	Motilitas Individu (%)	
	<i>Before Freezing</i>	<i>Post Thawing</i>
1	61,67 ± 2,50 ^b	35,51 ± 7,71 ^b
2	55,00 ± 0,00 ^a	25,05 ± 4,39 ^a
3	58,33 ± 5,00 ^b	30,09 ± 4,12 ^{ab}

Keterangan: a-b *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$) antar perlakuan

Respon Perlakuan pada Masing-masing Bull terhadap Kualitas Semen Before Freezing dan Post Thawing Persentase Motilitas Individu

Hasil analisa ragam persentase motilitas individu spermatozoa sapi *Wagyu* pada lama ekuilibrase yang berbeda menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan nyata ($P > 0,05$) antar perlakuan pada masing-masing individu *bull* yang berbeda baik saat pengamatan *before freezing* maupun *post thawing*. Motilitas individu pada spermatozoa menjadi hal yang sangat penting, karena sangat berpengaruh dalam proses transportasi spermatozoa selama berada di saluran reproduksi betina. Selain itu motilitas individu spermatozoa juga sangat berpengaruh dalam kemampuan proses fertilisasi. Menurut Entwistle and Fordyce (2003) bahwa motilitas atau pergerakan individu yang progresif dapat dijadikan penilaian fertilitas pejantan.

Rataan nilai persentase motilitas individu spermatozoa terhadap perlakuan lama ekuilibrase pada pengamatan *before freezing* pada *bull* 1 secara berurutan, untuk P1, P2, dan P3 sama yaitu 61,67%. Hasil ini masih dapat dikategorikan kualitas spermatozoa *before freezing* dengan lama waktu ekuilibrase yang berbeda pada penelitian ini masih baik. Dari hasil penelitian Indriani, Susilawati, dan Wahyuningsih (2013) bahwa rataan persentase motilitas spermatozoa pada penyimpanan di suhu 5°C dengan lama waktu 2 dan 3 jam yaitu 69,25% dan

69,25%. Sedangkan pada pengamatan *post thawing* memiliki nilai yang berbeda pada setiap perlakuan pada *bull* 1, yakni P1 (30,69%), P2 (35,69%), dan P3 (40,14%). Hasil ini masih lebih rendah dari SNI untuk persentase PTM semen sapi yakni 40% kecuali P3 pada *bull* 1. Sukmawati, dkk. (2014) juga menyatakan dari hasil penelitiannya untuk rataan persentase motilitas individu spermatozoa *post thawing* pada sapi Simmental yakni 41,29 ± 1,64% dengan lama ekuilibrase 3 jam.

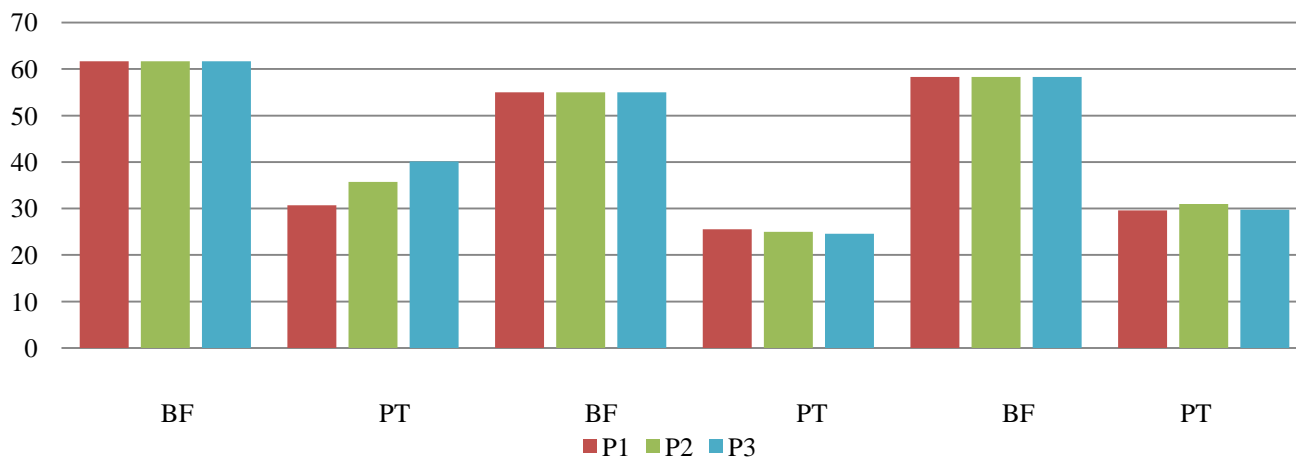
Rataan nilai persentase motilitas individu spermatozoa terhadap perlakuan lama ekuilibrase pada pengamatan *before freezing bull* 2 secara berurutan sama untuk P1, P2, dan P3 yaitu 55,00%. Hasil tersebut masih lebih baik dibandingkan dari hasil penelitian Nugroho, Susilawati, dan Wahyuningsih (2014) yang mendapatkan rataan persentase motilitas individu pada penyimpanan suhu 3-5°C pada jam ke 2 (54,50 ± 1,97%) dan jam ke-3 (51,75 ± 3,13%). Pada pengamatan *post thawing* memiliki nilai rataan persentase motilitas individu spermatozoa yang berbeda dari setiap perlakuan terhadap lama ekuilibrase pada *bull* 2, yaitu P1 (25,56%), P2 (25,00%), dan P3 (24,58%). Hasil ini menunjukkan angka yang sangat kecil dan jauh dari SNI persentase PTM semen. Sedangkan pada penelitian Sukmawati, dkk. (2014) diperoleh persentase motilitas individu *post thawing* terendah pada sapi FH sebesar 40,27 ± 1,10% dengan lama ekuilibrase 3 jam. Persentase motilitas individu spermatozoa

menunjukkan penurunan dari tiga perlakuan lama ekuilibrasi yang diberikan. Pada *bull* 2 dengan lama ekuilibrasi 3,5 jam (P1) masih dapat mempertahankan persentase motilitas individu spermatozoa.

Rataan nilai persentase motilitas individu spermatozoa terhadap perlakuan lama ekuilibrasi pada pengamatan *before freezing bull* 3 secara berurutan, untuk P1, P2, dan P3 sama yaitu 58,30%. Dibandingkan dengan hasil penelitian Situmorang (2002) dimana rata-rata persentase motilitas individu spermatozoa sapi pada penyimpanan suhu 5°C pada pengamatan hari ke 0 sebesar 64,00-66,60%. Namun masih lebih baik dibandingkan dari hasil penelitian Tuhi, Ondho, dan Samsudewa (2013) yang memperoleh hasil persentase motilitas

individu spermatozoa *before freezing* tertinggi 40,83%. Sedangkan pada pengamatan *post thawing* memiliki nilai yang berbeda pada setiap perlakuan pada *bull* 3, yakni P1 (29,58%), P2 (30,97%), dan P3 (29,72%). Hasil penelitian ini masih lebih baik jika dibandingkan dengan hasil penelitian Rastegarnia, Shahverdi, Topraggaleah, Shafiepour (2014) dimana rata-rata persentase motilitas individu spermatozoa *post thawing* dengan lama ekuilibrasi 4 jam hanya sebesar $26,40 \pm 4,30\%$. Pada *bull* 3 motilitas individu spermatozoa dapat bertahan dengan baik pada P2, tetapi terjadi peningkatan dari P1 dengan P3 walaupun tidak signifikan. Nilai persentase motilitas individu spermatozoa dengan perlakuan lama ekuilibrasi dapat dilihat pada Gambar 1.

Gambar 1. Nilai Rataan Persentase Motilitas Individu Spermatozoa (%) dengan Perlakuan Lama Ekuilibrasi P1 (3,5); P2 (4); dan P3 (4,5) jam pada Pengamatan Kualitas Semen *Before Freezing* dan *Post Thawing*



Total Spermatozoa Motil

Total spermatozoa motil merupakan analisis kualitas semen yang dilakukan dengan melakukan perkalian antara konsentrasi spermatozoa dengan persentase motilitas individu spermatozoa. Perhitungan total spermatozoa ini bertujuan untuk menilai apakah semen yang diproduksi memenuhi syarat untuk digunakan dalam inseminasi buatan. Hal

ini sesuai dengan pernyataan dari Weert, Repping, Voorhis, Veen, Bossuyt, and Mol (2004) bahwa hasil perhitungan Total Spermatozoa Motil menunjukkan jumlah sel spermatozoa yang masih memiliki kemampuan memfertilisasi untuk diinseminasikan. Rataan total spermatozoa motil sapi *Wagyu bull* 1 dengan perlakuan lama ekuilibrasi dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Rataan Total Spermatozoa Motil Sapi *Wagyu Bull* 1 dengan Perlakuan Lama Ekuilibrasi 3,5; 4; dan 4,5 Jam pada Pengamatan Kualitas Semen *Post Thawing*

Perlakuan	Rataan Total Spermatozoa	
	Motil (juta sel spermatozoa/straw)	sd
P1 (Lama Ekuilibrasi 3,5 jam)	10,7	2,6
P2 (Lama Ekuilibrasi 4 jam)	12,5	3,7
P3 (Lama Ekuilibrasi 4,5 jam)	14,0	1,0
Nilai Harapan	14,0	-

Nilai total spermatozoa motil *Post Thawing Motility* (PTM) pada *Bull* 1 yang memiliki nilai terbaik pada penelitian ini yaitu P1 (10,7 juta/straw), P2 (12,5 juta/straw), dan P3 (14,0 juta per straw) masih di bawah nilai SNI motilitas individu *post thawing* semen beku 40% (BSN, 2008), atau pada penelitian ini senilai 14,0 juta sel spermatozoa per straw. Hasil perhitungan *chi square* (X^2) menunjukkan bahwa nilai total spermatozoa motil hasil penelitian ini tidak berbeda nyata dengan nilai harapan 40%. Berdasarkan uraian tersebut, maka semen beku pada penelitian ini masih layak digunakan untuk diinseminasikan. Susilawati (2011^a) menyatakan bahwa semen beku dengan kualitas PTM di bawah standar SNI (20-40%) masih dapat menghasilkan kebuntingan 85-95% dengan deposisi semen saat IB pada posisi 4 dan 4⁺.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

- 1.) Tidak terdapat perbedaan pengaruh lama waktu ekuilibrasi terhadap kualitas semen *before freezing* dan *post thawing* pada sapi *Wagyu*.
- 2.) Individu *bull* sapi *Wagyu* memberikan pengaruh terhadap kualitas semen *before freezing* dan *post thawing*. Individu *bull* 1 memiliki nilai persentase kualitas spermatozoa terbaik. Nilai PTM pada *bull* 1 menunjukkan bahwa semen beku masih layak digunakan untuk IB. Total *J. Ternak Tropika Vol. 17, No.1: 31-41, 2016*

spermatozoa motil terbaik pada lama ekuilibrasi 4,5 jam (P3) 14,0±1,0 juta spermatozoa/straw.

Saran

Perlu dilakukan perbaikan untuk proses pembekuan semen sapi *Wagyu*. Perlu penelitian lebih lanjut penyebab perbedaan kemampuan pembekuan pada *bull* yang berbeda.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada PT Austasia Stockfeed unit pembibitan Jabung, Lampung Timur yang telah memberikan fasilitas penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Adhyatma, M., N. Isnaini, dan Nuryadi. 2013. Pengaruh Bobot Badan terhadap Kualitas dan Kuantitas Semen Sapi Simmental. *Jurnal Ternak Tropika*. 14 (2): 53-62.
- Arifiantini, I., T.L. Yusuf, dan N. Graha. 2005. Longivitas dan Recovery Rate Pasca Thawing Semen Beku Sapi Fresian Holstein Menggunakan Bahan Pengencer yang Berbeda. *Buletin Peternakan*. 29 (2): 53-61.
- Bearden, H.J., J.W. Fuquay, and S.T. Willard. 2004. *Applied Animal Reproduction* 6th Edition. Pearson Prentice Hall: New Jersey.
- BSN. 2008. *Semen Beku Sapi*. Badan Standarisasi Nasional. SNI 4869.1:2008. BSN. Jakarta.

- Entwistle, K. and G. Fordyce. 2003. Evaluating and Reporting Bull Fertility. AACV: Australia. ISBN 0-9585654-4-9.
- Garmyn. A.J., D.W. Moser, R.A. Christmas, and J.M. Borman. 2011. Estimation of Genetic Parameters and Effects of Cytoplasmic Line on Scrotal Circumference and Semen Quality Traits in Angus Bulls. *Journal of Animal Science*. 89: 693-698.
- Indriani, T. Susilawati, dan S. Wahyuningsih. 2013. Daya Hidup Spermatozoa Sapi Limousin yang Dipreservasi dengan Metode Water Jacket dan Free Water Jacket. *Jurnal Veteriner*. 14 (3): 379-386.
- Komariah, I. Arifiantini, dan W. Nugraha. 2013. Kaji Banding Kualitas Spermatozoa Sapi Simmental, Limousin, dan Friesian Holstein Terhadap Proses Pembekuan. *Buletin Peternakan*. 37 (3): 143-147.
- Kusumaningrum, D.A., P. Situmorang, A.R. Setioko, T. Sugiarto, E. Triwulanningsih, dan R.G. Sianturi. 2002. Pengaruh Jenis dan Aras Krioprotektan terhadap Daya Hidup Spermatozoa Entog. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*. 7 (4): 244-250.
- Labetubun, J. dan I.P. Siwa. 2011. Kualitas Spermatozoa Kauda Epididimis Sapi Bali dengan Penambahan Laktosa atau Maltosa yang Dipreservasi pada Suhu 3-5°C. *Jurnal Veteriner*. 12 (3): 200-207.
- Mumu, M.I. 2009. Viabilitas Semen Sapi Simental yang Dibekukan Menggunakan Krioprotektan Gliserol. *Jurnal Agroland*. 16 (2): 172-179.
- Novianto, B.R., Sudarno, dan E.D. Masithah. 2014. Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Gliserol dalam Susu Skim Kuning Telur untuk Proses Penyimpanan Sperma Beku terhadap Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Ikan Patin (*Pangasius pangasius*). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 6 (1): 1-6.
- Nugroho, Y., T. Susilawati, dan S. Wahyuningsih. 2014. Kualitas Semen Sapi Limousin Selama Pendinginan Menggunakan Pengencer CEP-2 dengan Penambahan Berbagai Konsentrasi Kuning Telur dan Sari Buah Jambu Biji (*Psidium guajava*). *Jurnal Ternak Tropika*. 15 (1): 31-42.
- Nyuwita, A., T. Susilawati, dan N. Isnaini. 2015. Kualitas Semen Segar dan Produksi Semen Beku Sapi Simmental pada Umur yang Berbeda. *Jurnal Ternak Tropika*. 16 (1): 61-68.
- Rastegarnia, A., A. Shahverdi, T.R. Topraggaleah, and V. Shafiepour. 2014. In Vitro Comparison of Soybean Lecithin-Based Extenders for Cryopreservation of Buffalo (*Bubalus bubalis*) Semen. *Comparative Clinical Pathology*. 23: 893-900.
- Salim, M.A., T. Susilawati, dan S. Wahyuningsih. 2012. Pengaruh Metode Thawing terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Bali, Sapi Madura dan Sapi PO. *Agripet*. 12 (2): 14-19.
- Situmorang, P. 2002. Pengaruh Kolestrol Terhadap Daya Hidup dan Fertilitas Spermatozoa Sapi. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*. 7 (4): 251-258.

- Solihati, N., R. Idi, S.D. Rasad, M. Rizal, dan M. Fitriati. 2008. Kualitas Spermatozoa Cauda Epididimis Sapi Peranakan Ongol (PO) dalam Pengencer Susu, Tris dan Sitrat Kuning Telur pada Penyimpanan 4-5°C. *Animal Production*. 10 (1): 22-29.
- Sukmawati, E., R.I. Arifiantini, dan B. Purwantara. 2014. Daya Tahan Spermatozoa terhadap Proses Pembekuan pada Berbagai Jenis Sapi Pejantan Unggul. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*. 19 (3): 168-175.
- Susilawati, T. 2011^a. Tingkat Keberhasilan Inseminasi Buatan dengan Kualitas dan Deposisi Semen yang Berbeda pada Sapi Peranakan Ongole. *Jurnal Ternak Tropika*. 12 (2): 15-24.
- _____, T. 2011^b. *Spermatology*. Universitas Brawijaya (UB) Press: Malang. ISBN 978-602-8960-04-5.
- _____, T. 2013. *Pedoman Inseminasi Buatan pada Ternak*. Universitas Brawijaya (UB) Press: Malang. ISBN 978-602-203-458-2.
- Tambing, S.N., M.R. Toelihere, T.L. Yusuf, B. Purwantara, I-K. Utama, dan P.Z. Situmorang. 2003. Pengaruh Frekuensi Ejakulasi terhadap Karakteristik Semen Segar dan Kemampuan Libido Kambing Saanen. *Jurnal Sain Veteriner*. XXI (2): 57-65.
- Tuhu, A.D., Y.S. Ondho, dan D. Samsudewa. 2013. Pengaruh Perbedaan Waktu Pelepasan Water Jacket dalam Proses Ekuilibriasi terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Jawa pada Tahap Before Freezing dan Post Thawing. *Animal Agricultural Journal*. 2 (1): 466-477.
- Weert, J-M.V., S. Repping, B.J.V. Voorhis., F.V.D. Veen, P.M.M. Bossuyt, and B.W.J. Mol. 2004. Performance of the postwash total motile sperm count as a predictor of pregnancy at the time of intrauterine insemination: a meta-analysis. *Fertility and Sterility*. 82 (3): 612-620.
- Winarto, A. dan N. Isnaini. 2008. Pengaruh Tingkat Pengenceran terhadap Kualitas Spermatozoa Kambing PE Setelah Penyimpanan pada Suhu Kamar. *Jurnal Ternak Tropika*. 9 (2): 72-80.
- Yusuf, T.L., R.I. Arifiantini, dan Y. Mulyadi. 2006. Efektivitas Waktu: Pemaparan Gliserol terhadap Motilitas Spermatozoa pada Pembekuan Semen Domba Lokal Menggunakan Pengencer Tris Kuning Telur. *Animal Production*. 8 (3): 168-173.
- Zamuna, A.A.K.K.M., T. Susilawati, G. Ciptadi, dan Marjuki. 2015. Perbedaan Kualitas Semen dan Produksi Semen Beku pada Berbagai Bangsa Sapi Potong. *Jurnal Ternak Tropika*. 16 (2): 1-6.