



KUALITAS SEMEN BEKU SAPI SIMMENTAL DENGAN METODE THAWING YANG BERBEDA

Muhammad Firman Saputra¹⁾, Fachroerrozi Hoesni²⁾, Teguh Sumarsono³⁾

¹⁾Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Jambi, Jambi, Indonesia

Email: mfirmanp04@gmail.com

²⁾Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Jambi, Jambi, Indonesia

Email: fach_hoesni@unja.ac.id

³⁾Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Jambi, Jambi, Indonesia

Email: teguh120sumar@unja.ac.id

ABSTRACT

This study aims to determine the effect of different thawing methods on the post-thaw quality of Simmental cattle frozen semen, covering spermatozoa motility, viability, and abnormality. The research was conducted at the Laboratory of UPTD Balai Pembibitan Ternak, Department of Food Crops, Horticulture, and Livestock of Jambi Province. The material used consisted of 20 straws of Simmental frozen semen. The study used a Completely Randomized Design (CRD) with 4 treatments and 5 replications. The treatments applied were P1 (31°C for 30 seconds), P2 (34°C for 25 seconds), P3 (37°C for 20 seconds), and P4 (40°C for 15 seconds). The observed variables included spermatozoa motility, viability, and abnormality. The data were analyzed using Analysis of Variance (ANOVA), and if there was a significant effect, it was followed by Duncan's Multiple Range Test. The results showed that the thawing method had a significant effect ($P < 0.05$) on spermatozoa motility and viability, but had no significant effect ($P > 0.05$) on spermatozoa abnormality. The best treatment was obtained in P3 (37°C for 20 seconds) with a motility value of $54,00 \pm 1,17\%$, viability of $64,60 \pm 0,65\%$, and the lowest abnormality of $5,20 \pm 0,57\%$. Treatment P4 (40°C for 15 seconds) resulted in the lowest motility and viability, while the percentage of abnormality across all treatments remained within the normal range for semen suitable for artificial insemination. Based on the results, it can be concluded that the thawing method at a temperature of 37°C for 20 seconds yields the best post-thaw quality of Simmental cattle frozen semen.

Keywords: Simmental cattle, frozen semen, thawing, motility, viability, abnormality

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh metode thawing yang berbeda terhadap kualitas semen beku sapi Simmental yang meliputi motilitas, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium UPTD Balai Pembibitan Ternak Dinas Tanaman Pangan, Hortikultura, dan Peternakan Provinsi Jambi. Materi yang digunakan adalah 20 straw semen beku sapi Simmental. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 5 ulangan. Perlakuan yang diberikan yaitu P1 (31°C selama 30 detik), P2 (34°C selama 25 detik), P3 (37°C selama 20 detik), dan P4 (40°C selama 15 detik). Peubah yang diamati meliputi motilitas, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa. Data dianalisis menggunakan analisis ragam (ANOVA), dan apabila terdapat pengaruh nyata dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode thawing memberikan pengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa, tetapi tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap abnormalitas spermatozoa. Perlakuan terbaik diperoleh pada P3 (37°C selama 20 detik) dengan nilai motilitas sebesar $54,00 \pm 1,17\%$, viabilitas sebesar $64,60 \pm 0,65\%$, dan abnormalitas terendah sebesar $5,20 \pm 0,57\%$. Perlakuan P4 (40°C selama 15 detik) menghasilkan motilitas dan viabilitas terendah, sedangkan persentase abnormalitas pada seluruh perlakuan masih berada dalam kisaran normal untuk semen yang layak digunakan dalam inseminasi buatan. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa metode thawing pada suhu 37°C selama 20 detik menghasilkan kualitas semen beku sapi Simmental terbaik pasca thawing.

Kata Kunci : Sapi Simmental, semen beku, thawing, motilitas, viabilitas, Abnormalitas



PENDAHULUAN

Sapi simmental merupakan sapi dwiguna (pedaging dan pekerja). Melihat daya guna yang luas (dwiguna), pemerintah memperkirakan sapi ini cocok digunakan untuk memperbaiki mutu sapi di Indonesia. Sapi ini berukuran besar, pertumbuhan ototnya sangat baik dan tidak banyak menimbulkan lemak dibawah kulit. Sapi simmental memiliki bulu berwarna merah muda, terdapat warna putih pada kepala (Hasnudin et al., 2019). Demikian dari lutut kebawah dan ujung ekor warna buluh putih, tanduk tidak begitu besar. Sapi simmental jantan dewasa berat badan dapat mencapai hingga 1.400kg (Syarifuddin et al., 2019). Sapi simmental memiliki persentasi karkas tinggi dan dapat difungsikan sebagai sapi potong dan perah dengan pertambahan bobot badan berkisar 0,6 sampai 1,5 kg per hari (Yunus, 2014). Sapi simmental mempunyai sifat jinak, tenang dan mudah dikendalikan. Melakukan pengembangbiakan bagi peternak. Bibit sapi simmental yang unggul dapat diperoleh dengan melakukan program pemuliabiakan ternak dengan menempatkan inseminasi buatan (IB).

Inseminasi buatan (IB) adalah suatu teknik mengawinkan ternak dengan cara bantuan manusia melalui pemasukan semen pejantan ke dalam alat reproduksi betina menggunakan alat khusus. Teknologi ini termasuk salah satu bentuk bioteknologi dalam bidang reproduksi yang berfungsi untuk menyebarkan genetik sapi unggul secara cepat, efisien, dan murah. Pelaksanaan IB dilakukan oleh inseminator yang sudah tersertifikasi agar hasilnya lebih terjamin. Program inseminasi buatan bertujuan meningkatkan populasi bibit unggul dan produksi ternak, sehingga kualitas maupun kuantitas produksi dapat terus bertambah. Lebih lanjut, program IB juga diharapkan mampu untuk meminimalisir adanya penularan penyakit kelamin pada sapi (Setiawan, 2018). inseminasi buatan juga memberikan manfaat penting dalam pencegahan penularan penyakit kelamin pada ternak, karena tidak terjadi kontak langsung antara pejantan dan betina. Salah satu faktor penentu keberhasilan program ini adalah mutu semen beku yang digunakan. Semen beku yang baik harus memiliki fertilitas tinggi dengan persentase motilitas dan jumlah spermatozoa hidup yang memadai. Berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI), semen segar yang dapat dibekukan harus memiliki motilitas lebih dari 70% dengan nilai gerakan minimal 2+. Kualitas semen ini dapat menurun akibat berbagai faktor, mulai dari proses pengolahan, penyimpanan di dalam kontainer, hingga distribusi ke lapangan. Oleh karena itu, setiap tahapan dalam penanganan semen beku harus dilakukan secara hati-hati agar kualitasnya tetap terjaga dan keberhasilan inseminasi buatan dapat tercapai dengan baik.

Proses thawing merupakan tahapan pencairan kembali semen beku setelah penyimpanan pada suhu sangat rendah di dalam nitrogen cair. Pada tahap ini terjadi perubahan fase air yang sebelumnya membentuk kristal es menjadi fase cair akibat peningkatan suhu, yang umumnya dilakukan menggunakan water bath pada suhu 37°C. Pelelehan kristal es di dalam straw

berlangsung relatif cepat, yaitu sekitar 10–60 detik. Cepatnya proses tersebut disebabkan oleh perbedaan suhu yang sangat besar antara kondisi penyimpanan semen beku (sekitar -196°C) dengan suhu thawing. Selama pencairan berlangsung, kristal es yang terbentuk selama proses pembekuan akan mencair secara bersamaan, baik pada ruang ekstraseluler maupun intraseluler. Kecepatan thawing merupakan faktor yang sangat menentukan keberhasilan pencairan semen beku.

Setelah semen beku dicairkan kembali (thawing), krioprotektan yang berada di dalam spermatozoa harus segera dikeluarkan. Namun, proses tersebut tidak dilakukan sekaligus, melainkan secara bertahap melalui pengenceran bertingkat selama kurang lebih 5–15 menit. Pengeluaran secara perlahan diperlukan agar spermatozoa memiliki waktu untuk beradaptasi terhadap perubahan lingkungan osmotik. Apabila krioprotektan dihilangkan secara tiba-tiba, akan terjadi perbedaan konsentrasi zat terlarut antara bagian dalam dan luar sel yang menyebabkan air masuk dengan cepat ke dalam spermatozoa. Masuknya air secara berlebihan dapat mengakibatkan pembengkakan sel, meningkatkan tekanan osmotik intraseluler, serta menyebabkan kerusakan pada membran plasma.

Keseimbangan tekanan osmotik merupakan salah satu faktor penting yang harus dijaga selama proses kriopreservasi, baik pada tahap pembekuan maupun thawing. Ketidakseimbangan tekanan osmotik antara lingkungan intraseluler dan ekstraseluler akan mendorong perpindahan air melalui membran semipermeabel menuju daerah dengan konsentrasi zat terlarut yang lebih tinggi. Perubahan volume sel yang terjadi akibat perpindahan air secara berlebihan dapat mengganggu stabilitas membran plasma, bahkan menyebabkan kerusakan permanen pada spermatozoa. Oleh karena itu, pengaturan proses masuk dan keluarnya krioprotektan secara bertahap menjadi salah satu faktor penting dalam mempertahankan integritas membran serta kualitas spermatozoa setelah proses kriopreservasi (Setiono et al., 2015).

Berdasarkan penjelasan diatas, maka akan dilakukan penelitian tentang kualitas semen beku sapi Simmental dengan metode thawing yang berbeda.

MATERI DAN METODE

1. Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Unit Pelayanan Teknis Daerah (UPTD) Balai Pembibitan Ternak Dinas Tanaman Pangan Hortikultura dan Peternakan Provinsi Jambi. Penelitian ini dimulai pada tanggal 10 November 2025 sampai dengan 10 Desember 2025.

2. Materi dan Peralatan

Bahan dan alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah semen beku sapi simental sebanyak 20 straw, container, N2 cair, mikro pipet, water bath, gunting, pinset, kertas tisu gulung, pipet, mikroskop binokuler, objek glass, cover glass, stopwach, kertas label.



3. Metode Penelitian

Persiapan Alat. Alat-alat digunakan saat penelitian dipersiapkan terlebih dahulu dan selanjutnya dicuci bersih yaitu cover glass, objek glass, gunting. Straw semen beku diambil dari kontainer nitrogen cair menggunakan pinset kemudian segera dikeringkan menggunakan tisu gulung untuk menghilangkan sisa nitrogen cair. Proses thawing dilakukan menggunakan waterbath dengan suhu pemanasan 31°C, 34 °C, 37 °C, 40 °C. Setelah proses thawing selesai, straw dipotong menggunakan gunting dan semen ditetaskan ke dalam objek glass dan ditutup menggunakan cover glass, selanjutnya dilakukan pemeriksaan kualitas spermatozoa.

4. Peubah yang Diamati

Pemeriksaan motilitas dilakukan menggunakan metode estimasi dengan meneteskan semen beku yang telah thawing pada berbagai variasi suhu dan waktu ke atas objek glass, kemudian ditutup dengan cover glass. Preparat tersebut diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran (10x40). Kemudian dilihat pergerakannya sebanyak 5 lapang pandang, motilitas individu ditentukan dengan menghitung persentase spermatozoa yang bergerak progresif ke depan, sedangkan pergerakan mundur maupun melingkar tidak diperhitungkan. (Priyanto et al., 2015) menyatakan perhitungan motilitas individu dinyatakan dalam persentase dengan nilai 0% sampai 100%.

$$\text{Motilitas} = \frac{\text{Jumlah Spermatozoa yang motil}}{\text{Jumlah total Spermatozoayang diamati}} \times 100 \%$$

Pengujian viabilitas dilakukan menggunakan metode pewarnaan diferensial dengan menempatkan semen beku yang telah di thawing pada berbagai variasi suhu dan waktu pada objek glass kemudian disampingnya diberi eosin-negrosin. Semen diaduk dengan eosin-netrosin menggunakan ose kemudian diulas menggunakan objek glass lainnya membentuk sudut 30° dan diamati dengan mikroskop pembesaran (10x40). Spermatozoa yang dihidup tidak menyerap warna sedangkan yang mati menyerap warna. (Priyanto et al., 2015) menyatakan rumus viabilitas adalah

$$\text{Viabilitas} = \frac{\text{Jumlah Spermatozoa Hidup}}{(\text{Jumlah Spermatozoa Hidup} + \text{Spermatozoa Mati})} \times 100 \%$$

Perhitungan abnormalitas dilakukan dengan menggunakan preparat ulas. Pembuatan preparat ulas dengan menempatkan semen beku yang telah di thawing pada berbagai variasi suhu dan waktu pada object glass kemudian disampingnya ditetesi eosin-negrosin menggunakan ose dan diaduk, diambil object glass lain diulas dengan sudut 30°. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop pembesaran (10x40). Abnormalitas dinilai dari morfologinya diantaranya tidak ada ekor, abnormalitas kepala, ekor bercabang, ekor melingkar, dan sebagainya. (Pubiandara et al., 2016) menyatakan abnormalitas spermatozoa dapat dihitung dengan menggunakan rumus

$$\text{Abnormalitas} = \frac{\text{Jumlah Spermatozoa Abnormal}}{(\text{Jumlah Spermatozoa Normal} + \text{Spermatozoa Abnormal})} \times 100 \%$$

5. Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 5 kali ulangan. Adapun Perlakuan terdiri dari:

- P1 = Suhu 31° C selama 30 detik
- P2 = Suhu 34° C selama 25 detik
- P3 = Suhu 37° C selama 20 detik
- P4 = Suhu 40° C selama 15 detik

6. Analisis Data

Data dianalisis dengan sidik ragam menggunakan ANOVA dan apabila terdapat pengaruh yang nyata dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan (Steel dan Torrie, 1993).

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Motilitas Spermatozoa

Motilitas spermatozoa adalah salah satu kriteria penentu kualitas spermatozoa yang dilihat dari banyaknya spermatozoa yang bergerak progresif, dan dijadikan sebagai acuan dalam penilaian kualitas spermatozoa untuk inseminasi buatan (Prastika et al., 2018). Rataan persentase motilitas spermatozoa sapi simmental dapat dilihat pada tabel 1. Berikut.

Tabel 1. Rataan Persentase Motilitas Spermatozoa sapi Simmental

Perlakuan	Motilitas (%)
P1	51,70 ± 1,44 ^b
P2	50,20 ± 1,30 ^b
P3	54,00 ± 1,17 ^a
P4	39,70 ± 0,57 ^c

Keterangan: Superskrip huruf kecil yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata (P<0,05).

Berdasarkan Tabel 1, perbedaan suhu thawing memberikan pengaruh nyata (P<0,05) terhadap motilitas spermatozoa semen beku sapi Simmental. Hal ini menunjukkan bahwa metode thawing semen beku merupakan faktor penting yang menentukan kemampuan gerak spermatozoa setelah proses thawing. Hasil penelitian menunjukkan bahwa motilitas tertinggi diperoleh pada perlakuan P3 (37°C selama 20 detik) yaitu sebesar 54,00 ± 1,17%, sedangkan motilitas terendah terdapat pada perlakuan P4 (40°C selama 15 detik) yaitu sebesar 39,70 ± 0,57%. Perlakuan P1 (31°C selama 30 detik) dan P2 (34°C selama 25 detik) menghasilkan motilitas masing-masing sebesar 51,70 ± 1,44% dan 50,20 ± 1,30%, serta tidak berbeda nyata antara P1 dan P2, namun keduanya berbeda nyata dengan P3 dan P4.

Motilitas spermatozoa pada perlakuan P1 (31°C selama 30 detik) dan P2 (34°C selama 25 detik) lebih



rendah dibandingkan P3. Hal ini diduga karena suhu thawing yang masih berada di bawah suhu fisiologis menyebabkan proses pencairan semen berlangsung lebih lambat sehingga kristal es di dalam straw belum mencair secara sempurna. Kondisi tersebut dapat memicu terbentuknya kembali mikrokristal es (ice recrystallization) yang merusak membran plasma spermatozoa. Kerusakan membran menyebabkan terganggunya transport ion, aktivitas enzim, dan fungsi mitokondria sehingga produksi adenosin trifosfat (ATP) sebagai sumber energi pergerakan spermatozoa menjadi berkurang. Akibatnya, kemampuan gerak progresif spermatozoa mengalami penurunan. (Fitrik et al., 2012) menyatakan bahwa suhu thawing yang kurang optimal menyebabkan kerusakan membran spermatozoa sehingga produksi ATP menurun dan motilitas menjadi rendah. Fenomena tersebut juga dijelaskan oleh (Pariz et al. 2020) yang menyatakan bahwa pembentukan kembali kristal es selama proses thawing merupakan salah satu penyebab utama kerusakan struktur spermatozoa setelah kriopreservasi.

Perlakuan P3 (37°C selama 20 detik) menghasilkan motilitas tertinggi yaitu sebesar 54,00%. Hasil ini menunjukkan bahwa diduga suhu 37°C merupakan suhu thawing yang paling optimal karena mendekati suhu fisiologis saluran reproduksi betina. Pada suhu tersebut, pencairan semen berlangsung cepat dan merata. Selain itu, diduga proses keluarnya krioprotektan (gliserol) dari dalam sel berlangsung secara bertahap sehingga keseimbangan osmotik dapat dipulihkan tanpa menyebabkan kerusakan membran plasma. Membran yang tetap utuh memungkinkan aktivitas metabolisme berlangsung normal sehingga mitokondria mampu menghasilkan ATP dalam jumlah yang cukup untuk menunjang gerakan progresif spermatozoa. (Utomo dan Boquifai 2010) menyatakan bahwa thawing pada air yang bersuhu 37°C - 38°C akan menghasilkan motilitas spermatozoa yang lebih baik dibanding suhu thawing yang lebih rendah. (Fauzan et al., 2014) menyatakan bahwa, suhu thawing yang rendah akan menghasilkan angka motilitas yang lebih rendah begitu juga sebaliknya suhu thawing yang tinggi maka akan menghasilkan angka motilitas yang tinggi.

Penurunan motilitas yang nyata terjadi pada perlakuan P4 (40°C selama 15 detik) dengan nilai sebesar 39,70%. Rendahnya motilitas pada perlakuan ini diduga disebabkan oleh suhu thawing yang terlalu tinggi sehingga spermatozoa mengalami heat shock. Suhu yang tinggi dapat meningkatkan aktivitas dan laju metabolisme spermatozoa secara berlebihan, sehingga kebutuhan energi meningkat dan produksi reactive oxygen species (ROS) juga menjadi lebih tinggi. Akumulasi ROS dapat menyebabkan stres oksidatif yang merusak membran plasma dan mengganggu fungsi mitokondria, sehingga produksi ATP sebagai sumber energi untuk pergerakan spermatozoa menurun. Selain itu, peningkatan aktivitas metabolisme menyebabkan produksi asam laktat meningkat. Akumulasi asam laktat tersebut dapat menyebabkan penurunan pH lingkungan semen menjadi lebih asam, yang selanjutnya

mengganggu aktivitas enzim dan fungsi metabolisme spermatozoa. Kondisi tersebut menyebabkan kemampuan spermatozoa dalam menghasilkan energi dan mempertahankan gerakan progresif semakin menurun, sehingga berakhir pada rendahnya motilitas spermatozoa. Hasil ini sejalan dengan Penelitian (Salim, et al., 2012) mendukung bahwa durasi thawing yang terlalu lama menyebabkan aktivitas metabolisme meningkat dan berlangsung secara massal, terjadi peningkatan produksi asam laktat sehingga konsentrasi asam laktat yang bersifat toxic meningkat berakibat pada rendahnya daya gerak spermatozoa sampai terjadi kematian

Secara keseluruhan, hasil penelitian menunjukkan bahwa thawing pada suhu 37°C selama 20 detik merupakan perlakuan terbaik dalam mempertahankan motilitas spermatozoa semen beku sapi Simmental. Suhu tersebut mampu menciptakan keseimbangan antara kecepatan pencairan semen dan pemulihan fungsi fisiologis spermatozoa sehingga integritas membran plasma tetap terjaga, metabolisme sel berlangsung normal, dan produksi ATP tetap optimal. Sebaliknya, suhu thawing yang terlalu rendah menyebabkan pencairan berlangsung tidak sempurna, sedangkan suhu yang terlalu tinggi memicu stres termal dan kerusakan oksidatif yang pada akhirnya menurunkan motilitas spermatozoa. Hasil penelitian ini memperkuat rekomendasi bahwa thawing pada kisaran suhu fisiologis (37°C) merupakan metode yang paling efektif untuk mempertahankan kualitas semen beku sapi Simmental pasca-thawing.

2. Viabilitas Spermatozoa

Viabilitas adalah daya hidup spermatozoa sebagai indikator kualitas spermatozoa (Sukmawati et al., 2014). Rataan persentase viabilitas spermatozoa sapi simmental dapat dilihat pada Tabel 2 berikut.

Tabel 2. Rataan Persentase Viabilitas Spermatozoa sapi Simmental

Perlakuan	Viabilitas (%) $\pm$ sd
P1	60,70 $\pm$ 0,97 ^b
P2	57,10 $\pm$ 0,65 ^c
P3	64,60 $\pm$ 0,65 ^a
P4	46,60 $\pm$ 0,65 ^d

Keterangan: Superskrip huruf kecil yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$).

Berdasarkan Tabel 2, metode thawing memberikan pengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap persentase viabilitas spermatozoa sapi Simmental. Perlakuan P3 (37°C selama 20 detik) menghasilkan viabilitas tertinggi yaitu 64,60 $\pm$ 0,65%, diikuti oleh P1 (31°C selama 30 detik) sebesar 60,70 $\pm$ 0,97%, P2 (34°C selama 25 detik) sebesar 57,10 $\pm$ 0,65%, sedangkan viabilitas terendah diperoleh pada P4 (40°C selama 15 detik) yaitu 46,60 $\pm$ 0,65%. Perbedaan superskrip pada setiap perlakuan menunjukkan bahwa seluruh perlakuan berbeda nyata



satu sama lain ($P < 0,05$). Hasil ini menunjukkan bahwa kombinasi suhu dan waktu thawing sangat menentukan kemampuan spermatozoa mempertahankan integritas membran plasma setelah proses pencairan semen beku.

Tingginya viabilitas pada P3 menunjukkan bahwa suhu 37°C selama 20 detik mampu mempertahankan keutuhan membran plasma spermatozoa sehingga sel tetap hidup setelah proses thawing, dan menghasilkan viabilitas tertinggi yaitu $64,60 \pm 0,65\%$. Toelihere, M. R. (1985) menyatakan bahwa semen yang baik memiliki persentase viabilitas diatas 50%. (Aprilina et al., 2014) Suhu thawing 37°C merupakan suhu ideal untuk spermatozoa hidup. Pada suhu tersebut tidak menunjukkan penurunan yang drastis secara konduksi, konveksi dan evaporasi ke suhu lingkungan, sehingga pada saat thawing menyebabkan spermatozoa mencair secara sempurna dan belum menyebabkan terjadinya tekanan osmotik secara ekstrim pada membran spermatozoa, sehingga permiabilitas membran utuh dan tidak terganggu, kondisi ini menjamin keseimbangan homeostatis membran sel karena pertukaran senyawa-senyawa berlangsung secara normal.

Viabilitas spermatozoa dihitung dengan melakukan pewarnaan menggunakan eosin-negrosin. Apabila spermatozoa menyerap warna atau setengah menyerap warna maka dianggap mati, spermatozoa yang tidak menyerap warna dianggap masih hidup. Susilawati.T. (2011) menyatakan spermatozoa yang hidup membrannya masih baik, sehingga pewarna tidak dapat masuk, sedangkan spermatozoa yang mati adalah membrannya tidak berfungsi, sehingga pewarna dapat masuk kedalam membran spermatozoa. Membran merupakan bagian terluar dari spermatozoa yang berfungsi untuk melindungi spermatozoa, sehingga apabila membrannya fungsi dan atau strukturnya rusak maka spermatozoa akan mati, dan spermatozoa yang membrannya utuh yang mampu melakukan fertilisasi.

Viabilitas pada P1 lebih tinggi dibandingkan P2, namun keduanya masih lebih rendah daripada P3. Hal ini menunjukkan bahwa suhu thawing yang masih di bawah suhu fisiologis menyebabkan proses pencairan berlangsung lebih lambat sehingga pemulihan fungsi membran spermatozoa belum optimal. (Binangkari et al., 2022), menyatakan bahwa suhu yang rendah akan mengakibatkan bocornya substansi vital dalam spermatozoa sehingga enzim intraseluler, lipoprotein, ATP, intraseluler dan lemak berfosfor berkurang dan menyebabkan kerusakan membran plasma sehingga persentase viabilitas menurun.

Rendahnya viabilitas pada P4 diduga disebabkan oleh penggunaan suhu thawing yang lebih tinggi (40°C), sehingga terjadi perubahan suhu yang terlalu cepat dan mengakibatkan kerusakan membran plasma spermatozoa. Kerusakan membran menyebabkan permeabilitas sel meningkat, kebocoran komponen intraseluler, serta menurunkan kemampuan spermatozoa untuk tetap hidup. Pratama et al. (2018) menyatakan bahwa perubahan suhu yang tidak sesuai selama proses thawing dapat merusak membran spermatozoa akibat terbentuknya kristal es dan gangguan permeabilitas membran. Penurunan viabilitas

pada P4 juga berkaitan erat dengan meningkatnya stres oksidatif selama proses thawing. Radikal bebas yang terbentuk dapat menyerang asam lemak tak jenuh pada membran plasma spermatozoa sehingga terjadi peroksidasi lipid. Kerusakan akibat peroksidasi lipid akan menurunkan fleksibilitas membran, menghambat aktivitas enzim membran, serta mengurangi kemampuan spermatozoa mempertahankan metabolisme normal.

3. Abnormalitas Spermatozoa

Abnormalitas spermatozoa merupakan kelainan yang terjadi pada morfologi spermatozoa. karena struktur sel yang abnormal dapat menyebabkan gangguan dan hambatan pada saat fertilisasi, lebih jauh menyebabkan rendahnya angka implantasi maupun kebuntingan (Afati et al., 2015). Rataan persentase viabilitas spermatozoa sapi simmental dapat dilihat pada Tabel 2 berikut.

Tabel 3. Rataan Persentase Abnormalitas Spermatozoa sapi Simmental

Perlakuan	Abnormalitas (%) $\pm$ sd
P1	$5,50 \pm 0,5$
P2	$5,80 \pm 0,76$
P3	$5,20 \pm 0,57$
P4	$5,90 \pm 0,42$

Keterangan: Superskrip huruf kecil yang sama pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan tidak nyata ($P > 0,05$).

Berdasarkan Tabel 3, menunjukkan bahwa metode thawing memberikan pengaruh tidak nyata ($P > 0,05$) terhadap persentase abnormalitas spermatozoa sapi Simmental. Persentase abnormalitas spermatozoa pada seluruh perlakuan relatif rendah, yaitu berkisar antara $5,20$ – $5,90\%$. Nilai abnormalitas terendah diperoleh pada perlakuan P3 (37°C selama 20 detik) sebesar $5,20 \pm 0,57\%$, sedangkan nilai tertinggi terdapat pada P4 (40°C selama 15 detik) sebesar $5,90 \pm 0,42\%$. Meskipun terdapat perbedaan nilai rata-rata, hasil analisis statistik menunjukkan bahwa seluruh perlakuan tidak berbeda nyata, sehingga variasi suhu dan waktu thawing yang digunakan belum memberikan pengaruh terhadap terbentuknya abnormalitas spermatozoa. Rendahnya persentase abnormalitas pada seluruh perlakuan menunjukkan bahwa proses pembekuan dan thawing masih mampu mempertahankan struktur morfologi spermatozoa. Perlakuan P3 cenderung menghasilkan abnormalitas yang lebih rendah karena thawing pada suhu fisiologis 37°C memungkinkan pencairan berlangsung lebih merata sehingga kerusakan membran dan struktur spermatozoa dapat diminimalkan.

Tidak adanya perbedaan nyata antar perlakuan diduga karena rentang suhu dan waktu thawing yang digunakan diduga masih berada dalam batas toleransi spermatozoa terhadap perubahan suhu. Dengan demikian, perlakuan tersebut lebih banyak memengaruhi kualitas fungsional spermatozoa, seperti motilitas dan viabilitas, dibandingkan perubahan morfologi. Persentase abnormalitas pada seluruh perlakuan masih berada di



bawah 10%, sehingga masih memenuhi standar kualitas semen untuk inseminasi buatan. Wiratri dkk. (2014) menyatakan bahwa abnormalitas spermatozoa sebesar 8–10% belum memberikan pengaruh terhadap kualitas semen, sedangkan abnormalitas di atas 25% dapat menurunkan fertilitas. Dengan demikian, persentase abnormalitas pada penelitian ini yang berkisar 5,20–5,90% menunjukkan bahwa semen beku sapi Simmental masih layak digunakan untuk program inseminasi buatan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa metode thawing pada suhu 37°C selama 20 detik menghasilkan kualitas semen beku sapi Simmental terbaik pasca thawing.

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disarankan bahwa proses thawing semen beku sapi Simmental sebaiknya dilakukan pada suhu 37°C selama 20 detik karena terbukti mampu menghasilkan motilitas dan viabilitas spermatozoa yang lebih baik tanpa meningkatkan abnormalitas spermatozoa. Metode thawing tersebut dapat dijadikan sebagai acuan dalam pelaksanaan inseminasi buatan untuk memperoleh kualitas semen yang optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Afiati, F., Yulnawati, M. R., & Arifiantini, R. I. (2015). Abnormalitas spermatozoa domba dengan frekuensi penampungan berbeda. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*, 1(4), 930-934.
- Aprilina, N., Suharyati, S., & Santosa, PE (2014). Pengaruh suhu dan lama pencairan di dataran rendah terhadap kualitas semen beku sapi simental. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*, 2 (3).
- Binangkari, I. R., Widnyana, N. P., & Loliwu, Y. A. (2022). Kualitas spermatozoa semen beku sapi bali pada suhu thawing yang berbeda. *Agropet*, 19(2), 30-35.
- Fauzan, M., Hartono, M., & Santosa, P. E. (2014). Pengaruh suhu dan lama thawing di dataran rendah terhadap kualitas semen beku sapi Brahman. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*, 2(3).
- Fitrik, F., & Supartini, N. 2012. Pengaruh suhu dan lama thawing terhadap kualitas spermatozoa kambing peranakan etawa. *Buana Sains*, 12(1), 81-86.
- Hasnudin, Ginting, N., Hasanah, U., dan Patriani, P. 2019. *Pengelolaan Ternak Sapi Potong*. Medan/Anugrah Pengeran Jaya, pp.
- Pariz JR, Monteiro R, dan Hallak J. 2020. Kriopreservasi sperma jangka panjang tidak mempengaruhi tingkat kelangsungan hidup pasca pencairan. *JBRA Assisted Reproduction Vol.24* (1): 3–8.
- Prastika, Z., Susilowati, S., Agustono, B., Safitri, E., Fikri, F., & Prastiya, R. A. (2018). Motilitas dan viabilitas spermatozoa sapi rambon di Desa Kemiren Banyuwangi. *Jurnal Medik Veteriner*, 1(2), 38-42.
- Pratama. J. W. A., D. A. K. Sari, dan M. Sigit. 2018. Pengaruh Beberapa Metode Thawing terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Simental. *Jurnal Ilmiah Fillia Cendekia*. 3(2):39-45.
- 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.
- Setiawan, D. 2018. Artificial insemination of beef cattle upsur siwab program based on the calculation of non-return rate, service per conception and calving rate in the north kayong regency. *The International Journal of Tropical Veterinary and Biomedical Research*, 3(1), 7-11.
- Setiono.N., S. Suharyati, dan P. E. Santosa. 2015. Kualitas semen beku sapi brahman dengan dosis krioprotektan gliserol yang berbeda dalam bahan pengencer tris sitrat kuning telur. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*. 3(2): 61-69.
- Sukmawati, E., R.I. Arifiantini dan B. Purwantara. 2014. Daya Tahan Spermatozoa Terhadap Proses Pembekuan pada Berbagai Jenis Sapi Pejantan Unggul. *Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. JITV*, 19(3):168-175
- Susilawati.T. 2011. *Spermatologi*. Malang. Ub Press.
- Syarifuddin dan Hartono, B. 2019. *Agribisnis Sapi Potong Teori dan Aplikasi Usaha*. 1st edition. Malang/Media Nusa Creative, pp: 27-28.
- Toelihere, M. R. 1985. *Fisiologi Reproduksi pada Ternak*. Angkasa. Bandung. 1985.
- Utomo, S., & Boquifai, E. (2010). Pengaruh temperatur dan lama thawing terhadap kualitas spermatozoa sapi dalam penyimpanan straw beku. *Skripsi. Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian. Universitas Mercu Buana. Yogyakarta*, 8(1), 22-25.
- Yunus, A. 2014. *Sukses usaha pembib-itan sapi dan kambing*. Pustaka Baru Press. Bantul, Yogyakarta.