

PERLAKUAN TERHADAP SEMEN BEKU DALAM STRAW
SEBELUM PEMAKAIAN LAPANGAN DI INDONESIA

Oleh

L.H. Sanjaya dan M.R. Toolihore ¹⁾

Rangkuman

Suatu percobaan faktorial 4×4 telah dilakukan untuk menguji pengaruh penyimpanan semen beku bentuk straw didalam es, air es, air kran, dan serbuk CO_2 padat (dry ice) dan pengaruh waktu 5 menit, 3 jam 6 jam, dan 9 jam setelah penyimpanan didalam keempat media tersebut. Persentase sperma motil didalam keempat media tersebut ternyata sama (70 sampai 75 persen) pada penyimpanan selama 5 menit. Presentase tersebut tetap dipertahankan pada penyimpanan didalam serbuk CO_2 padat selama waktu 9 jam, sedangkan penyimpanan didalam air es, es, dan air kran tidak dapat mempertahankan kehidupan spermatozoa dalam ukuran presentase pergerakan yang baik untuk pembuahan.

Hasil penelitian ini menyimpulkan bahwa pengangkutan semen beku dalam straw untuk pemakaian lapangan di Indonesia terbaik memakai serbuk CO_2 padat, jauh lebih murah dari pada memakai N_2 cair. Semen beku yang dicairkan kembali dan disimpan didalam es, air es, dan air kran harus dipakai dalam waktu selambat-lambatnya 5 menit. Pengangkutan semen beku di dalam ketiga media tersebut terakhir untuk pemakaian lapangan tidak dianjurkan.

Pendahuluan

Sejak pemasukannya pada tahun 1973, semen beku telah dipakai secara meluas dalam program penggalakan inseminasi buatan pada sapi sebagai usaha peningkatan mutu dan jumlah jenis ternak tersebut di Indonesia. Akan tetapi dari hasil Survey Evaluasi Kegiatan Inseminasi

Dari Bagian Inseminasi Buatan Departemen Fisiopatologi Reproduksi
Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor.

Buatan pada sapi di Jawa yang dilaksanakan oleh Team Gabungan Fakultas Kedokteran Hewan IPB dan Fakultas Peternakan UNPAD atas kerjasama dengan Direktorat Jendral Peternakan pada tahun 1974, ternyata bahwa presentase kebuntingan yang dicapai selama 2 tahun terakhir sangat rendah, yaitu antara 21,30 sampai 38,92% untuk inseminasi pertama dibandingkan dengan standar 60 sampai 70 % di negara-negara maju.

Apabila dibandingkan antara hasil inseminasi buatan memakai semen beku dengan yang memakai semen cair ternyata bahwa pada populasi yang sama, inseminasi buatan dengan semen cair memperlihatkan hasil yang lebih tinggi dari pada dengan semen beku. Kasus ini ditemukan di daerah Bogor dan Ungaran, dua pusat kegiatan inseminasi buatan terkemuka di Indonesia dengan peternak dan inseminator yang berpengalaman dan trampil dalam bidang dan tugasnya masing-masing. Hal ini berarti bahwa sebab kegagalan reproduksi pada inseminasi buatan memakai semen beku harus dicari dalam cara perlakuan semen beku tersebut sebelum dan sewaktu inseminasi.

Presentase konsepsi yang menurun dapat disebabkan karena kesalahan-kesalahan teknis terutama mengenai perlakuan terhadap semen beku, khususnya mengenai waktu, tempat dan cara thawing yang tidak logis artis, atau pengangkutan semen yang sudah dicairkan kembali merempuh jarak yang terlalu jauh untuk diinseminasikan kepada sapi rakyat di desa-desa.

Tinjauan Pustaka.

Untuk mempertahankan kehidupan spermatozoa maka semen beku harus selalu disimpan didalam bejana vacuum atau container berisi nitrogen cair bersuhu - 196°C dan terus dipertahankan pada suhu tersebut sampai waktu dipakai. Semen beku yang hendak dipakai, dileluarkan dari bejana nitrogen cair dan dicairkan kembali untuk dapat disempretkan kedalam saluran kelenjar betina. Sesudah pencairan kembali (thawing), semen beku tersebut merupakan barang rapuh dan tidak tahan lama hidup seperti semen cair. Oleh karena itu, untuk menjamin fertilitas yang tinggi maka inseminasi harus dilakukan segera sesudah thawing.

Pencairan kembali semen beku dapat dilakukan dengan berbagai cara. Apapun cara yang dilakukan harus berpegangan pada prinsip bahwa kurva peningkatan suhu semen harus menaik secara konstan sampai waktu inseminasi. Di Jerman Barat, thawing terhadap straw dilakukan pada air bersuhu 34°C selama 15 detik. Di Amerika Serikat, thawing biasanya dilakukan dengan memasukkan straw kedalam air es yang bersuhu 5°C selama 5 sampai 6 menit. Pada Balai Inseminasi Buatan di Ungaran, Jawa Tengah, thawing straw dengan air kran dikatakan memberi hasil yang lebih memuaskan daripada thawing memakai air es walaupun tidak dijelaskan berapa lama jarak waktu antara thawing dan inseminasi (Teclihore, 1974).

Menurut Haf's dan Elliot (1954), thawing yang dilakukan pada air bersuhu 38°C sampai 40°C menghasilkan daya tahan hidup sperma yang lebih baik bila dibandingkan dengan pada suhu yang lebih rendah. Sebaliknya Van Demark *et al.* (1957) menyatakan bahwa thawing pada suhu 5°C menghasilkan pergerakan yang lebih baik bila dibandingkan dengan thawing pada suhu 38°C . Penelitian-penelitian lain menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan antara daya tahan hidup sperma yang dicairkan kembali pada air bersuhu 38°C sampai 40°C dengan yang dicairkan kembali pada air bersuhu 5°C (Brugman *et al.*, 1958; O'Dell & Almqvist, 1954; Rowson, 1953). Jelaslah bahwa berbagai faktor menimbulkan ketidak seragaman pendapat antara peneliti-peneliti tersebut.

Pickott *et al.* (1965), yang meneliti mengenai pengaruh thawing pada berbagai suhu, menemukan bahwa tidak ada perbedaan yang nyata dalam motilitas antara semen yang dicairkan kembali didalam air hangat bersuhu 40°C dan air es pada suhu 1°C ; keduanya lebih baik dari pada thawing pada suhu diantaranya. Pencairan kembali semen beku didalam air kran (14°C sampai 16°C) selama 5 menit memperlihatkan motilitas sperma yang lebih rendah daripada didalam air es (0°C sampai 2°C) selama 12 menit bila keduanya disimpan selama 1 jam pada suhu 32°C .

Penelitian pada waktu-waktu akhir-akhir ini menunjukkan bahwa prosentase motilitas sperma dan prosentase acrosoma utuh adalah tertinggi pada waktu segera sesudah semen beku dicairkan kembali

dengan air pams (rata-rata 75°C); prosentase tersebut menjadi sangat menurun dengan bertambahnya waktu sesudah thawing (Wiggin & Almqvist, 1975).

Materi dan Metoda

Untuk penelitian ini diperoleh sumbangan semen boku sebanyak 70 dosis dalam bentuk straw dari Direktorat Jendral Peternakan di Jakarta. Semen tersebut berasal dari pejantan Aberdeen Angus yang bernama Crocs of Korakonui, nomor 66505, dari New Zealand Dairy Board, Selandia Baru. Enam dari 70 dosis tersebut dipakai dalam pemeriksaan pendahuluan dan 64 dosis selebihnya dipakai untuk penelitian yang sebenarnya. CO₂ padat (dry ice) disumbangkan oleh P.T. Diamond Cold Storage Jakarta.

Suatu percobaan faktorial 4 x 4 dipergunakan untuk menguji pengaruh thawing didalam es, air es, air kran, dan CO₂ padat, dan pengaruh waktu 5 menit, 3 jam, 6 jam, dan 9 jam sesudah penyimpanan semen boku pada media tersebut diatas, masing-masing diulangi 4 kali. Keempat media tersebut masing-masing ditempatkan didalam suatu tabung thermos biasa. Bahan CO₂ padat dan es dihancurkan dahulu menjadi serbuk sebelum dimasukkan kedalam thermos.

Pada setiap ulangan pemeriksaan, semen boku diambil dari container nitrogen cair dan langsung dimasukkan kedalam thermos berisi media tersebut, masing-masing sebanyak 4 straw.

Pada waktu yang sudah ditentukan sesuai dengan jadwal tersebut diatas, satu straw dari setiap contoh dikeluarkan dari thermos dan dihangatkan untuk dicairkan dengan jalan menggosok-gosoknya didalam kedua telapak tangan, kemudian diperiksa prosentase motilitas spermanya dibawah mikroskop phase kontras.

Pada setiap kali pemeriksaan, straw dari setiap contoh dikeluarkan dari thermos dan diperiksa sesuai dengan urutan pada pertamanya sehingga perbedaan waktu pada setiap pemeriksaan tidak melebihi 2 menit dari waktu yang sudah ditentukan.

Penilaian prosentase sperma motil dilakukan dengan menghitung secara tepat jumlah spermatozoa yang bergerak dibandingkan dengan

seluruh sperma yang dilihat dibawah mikroskop, paling sedikit 5 pandangan mikroskop untuk setiap contoh.

Data yang diperoleh diuji secara statistis dengan analisa varians untuk percobaan faktorial menurut Snedecor (1962).

Hasil dan Pembahasan

Nilai prosentase daya gerak spermatozoa segera (5 menit) sesudah penempatannya didalam keempat media ternyata cukup tinggi, tidak kurang dari 70 prosen (Tabel 1). Prosentase tersebut sedikit-banyaknya terus dipertahankan didalam penyimpanan dengan CO₂ padat, sedangkan didalam air es, es, dan air kran prosentase tersebut makin menurun sesuai dengan lamanya waktu penyimpanan sampai mencapai rata-rata 5,5 prosen didalam penyimpanan dengan air kran, 17,5 prosen didalam air es, dan 25 prosen didalam es selama 9 jam waktu penyimpanan.

Dari analisa varians ternyata bahwa lama maupun tempat penyimpanan semen beku untuk pemakaian lapangan menunjukkan perbedaan yang sangat nyata terhadap daya tahan hidup spermatozoa (Tabel 2).

Interaksi yang nyata membuktikan bahwa kedua faktor tersebut tidak independen melainkan saling tergantung satu dengan yang lain; perbedaan dalam pengaruh waktu terhadap macam-macam tempat penyimpanan sangat nyata, sebaliknya pengaruh tempat penyimpanan terhadap berbagai waktupun berbeda. Dengan perkataan lain, daya tahan hidup spermatozoa setelah dibiarkan pada berbagai waktu sangat berbeda dari waktu ke waktu dan dari satu tempat penyimpanan ke tempat penyimpanan yang lain. Setiap pengaruh faktor waktu tergantung kepada faktor tempat penyimpanan dan sebaliknya.

Namun demikian analisa varians tidak menunjukkan faktor atau faktor-faktor mana yang terbaik dalam mempertahankan daya hidup spermatozoa. Untuk itu dipergunakan uji Duncan yang dimodifikasi oleh Snedecor (1962).

Ternyata bahwa penyimpanan dalam CO₂ padat memberikan nilai preservasi semen yang nyata jauh lebih baik dibandingkan dengan penyimpanan pada media lainnya.

Tabel 1. Pengaruh Lama dan Tempat Penyimpanan Sesaon Boku untuk Pemakaian Lapangan terhadap Daya Tahan Hidup Spermatozoa (Presentase Sperma Hidup).

Tempat	Waktu	5 menit	3 jam	6 jam	9 jam
E s		70	40	30	20
		70	40	30	15
		70	40	25	40
		70	50	40	25
	Jumlah :	280	170	125	100
	Rata ² :	70	42,5	31,25	25
Air es		70	25	40	15
		70	50	45	20
		75	60	40	15
		70	50	40	20
	Jumlah :	285	185	165	70
	Rata ² :	71,25	46,25	41,25	17,5
Air kran		70	15	10	2
		70	40	20	5
		75	50	40	10
		75	40	30	5
	Jumlah :	290	145	100	22
	Rata ² :	72,5	38,25	25	5,5
CO ₂ padat ("Dry ice")		70	70	65	60
		70	70	60	65
		75	70	65	60
		75	70	70	70
	Jumlah :	290	280	270	255
	Rata ² :	72,5	70	67,5	63,75

Tabel 2. Analisa Varians untuk Data Tabel 1.

Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kwadrat	Kwadrat Tengah	F
Perlakuan :	(15)	(30.493,5)		
Lama Penyimpanan	3	16.037,13	5.345,71	62,47**
Tempat Penyimpanan	3	10.230,25	3.410,08	97,92**
Interaksi (W x T)	9	4.226,12	469,57	8,60
Error	48	2.620,5	54,59	

**

$P \leq 0,01$

Perbedaan nilai preservasi semen pada penyimpanan dalam es, air es, dan air kran tidak nyata; berarti bahwa penyimpanan didalam kotiga media tersebut tidak sebaik penyimpanan didalam CO₂ padat.

Perbedaan pengaruh waktu atau lama penyimpanan sangat nyata terlihat pada waktu thawing 5 menit sesudah penyimpanan dibandingkan dengan waktu-waktu yang lain. Demikian pula waktu thawing 3 jam sesudah penyimpanan masih menunjukkan perbedaan yang nyata dibandingkan dengan waktu 9 jam, akan tetapi tidak nyata bila dibandingkan dengan waktu 6 jam sesudah penyimpanan. Hal ini berarti bahwa penyimpanan semen beku selama waktu 3 jam dalam keempat media tersebut mungkin masih cukup baik dibandingkan dengan waktu 9 jam, walaupun mungkin hanya dua kali lebih baik dari pada waktu 6 jam. Perbedaan antara waktu 6 jam dengan 9 jam tidak ada; keduanya terlampau lama untuk dapat mempertahankan daya hidup spermatozoa.

Penempatan dan sekaligus pencairan kembali semen beku bentuk straw didalam air kran memberikan prosentase daya gerak spermatozoa yang tinggi sekitar 5 menit sesudah thawing, tetapi nilai tersebut menurun secara drastis sampai setengah nilai awal dalam waktu 3 jam. Hal ini sesuai dengan hasil percobaan Pickott *et al.* (1965). Malahan menurut Wiggin dan Almqvist (1975), pencairan kembali semen beku bentuk straw perlu dilakukan dalam waktu yang sangat singkat yaitu dengan menggunakan air panas bersuhu 75° sampai 95°C untuk mempertahankan integritas spermatozoa secara maksimum. Akan tetapi daya tahan hidup spermatozoa yang dicairkan kembali didalam air hangat atau air kran segera menurun karena onersi banyak terpakai untuk pergerakan. Oleh karena itu dianjurkan supaya apabila air kran atau air hangat yang dipergunakan untuk thawing karena lebih praktis, maka semen tersebut harus dipakai secepat mungkin, maksimal 5 menit sesudah thawing. Demikian pula pada penyimpanan semen beku didalam es dan air es menunjukkan penurunan prosentase sperma motil yang hampir sama dengan didalam air kran.

Pada galibnya penyimpanan semen beku didalam air es ataupun didalam es sudah merupakan suatu proses thawing yang lambat.

Thawing secara lambat akan menurunkan daya sel sperma dalam mempertahankan acrosomanya, berarti pula menurunkan kapasitas pembuahannya (Saacke & White, 1972). Hal ini berarti bahwa semen dalam keadaan beku tidak boleh dicairkan kembali didalam es, air es, air kran atau medium apapun yang bersuhu diatas suhu semen beku tanpa dipergunakan sesegera mungkin.

Suhu semen beku harus tetap dipertahankan jauh dibawah 0°C sampai waktu hendak dipakai. Apabila hendak dibawa ke lapangan, sedapat mungkin semen beku tetap dibawa didalam container berisi nitrogen cair atau serbuk CO_2 padat. Berhubung harga nitrogen cair yang cukup mahal dan sifatnya yang cepat menguap, maka pemakaian CO_2 padat didalam thermos sebagai tempat penyimpanan semen beku merupakan satu-satunya cara terbaik dan cukup murah untuk pengangkutan semen beku kelapangan atau ke desa-desa di Indonesia. Pengangkutan semen beku didalam tabung berisi es, sir es, atau air kran tidak dapat dianjurkan karena sudah merupakan suatu proses thawing yang lambat yang akan menggoyahkan integritas sel sperma dan menurunkan fertilitasnya.

Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan untuk menguji secara langsung fertilitas semen beku pada berbagai media dan waktu penyimpanan.

Kesimpulan

Berdasarkan percobaan tersebut diatas dapat disimpulkan bahwa :

1. Penyimpanan semen beku bentuk straw didalam thermos berisi serbut CO₂ dapat merupakan cara terbaik untuk pengangkutan semen beku tersebut dalam pemakaian lapangan di Indonesia, dengan ketentuan bahwa sarana untuk itu cukup tersedia.
2. Penyimpanan dan pengangkutan semen beku bentuk straw didalam thermos berisi es, air es, dan air kran tidak dapat dianjurkan.
3. Penempatan yang sekaligus merupakan thawing semen beku di dalam es, air es atau air kran dapat dibenarkan selama semen tersebut dipakai dalam waktu selambat-lambatnya 5 menit sesudah dikeluarkan dari container nitrogen cair.
4. Pencairan kembali semen didalam air kran lebih baik dan lebih praktis dari pada di dalam es atau air es, asalkan semen yang sudah dicairkan kembali tersebut dipakai dalam waktu kurang dari 5 menit.

Daftar Pustaka

- Berugman, H.H., M.E. Poore, R.P. Schmidt. 1958. Investigation of motility of sperm thaed at different temperatures and time intervals. J. Dairy Sci., 41 : 737
- Hafs, H.D., F.I. Elliot. 1954. Effect of thawing temperature and extender composition on the fertility of frozen bull semen. J. Anim. Sci., 13 : 958
- O'Dell, W.T., J.O. Almqvist. 1954. Techniques for freezing semen bull spermatozoa in heated milk and proliminary breeding results. J. Dairy Sci., 37 : 652.
- Pickett, B.W., R.C. Hall, Jr., J.J. Lucas, E.W. Gibson. 1965. Investigations on thawing frozen bovine spermatozoa. Fertility and Sterility, 16 : 642.
- Rowson, L.E.A. 1953. The storage of bull semen at low temperatures. Vet. Sci., 65 : 559.
- Saecke, R.G., J.K. White. 1972. Semen quality test and their relationship to fertility. Proc. 4th Tech. Conf. Artif. Insem. Reprod., p. 22.

Snedecor, G.W. 1962. Statistical Methods. Iowa State Univ. Press. Ames, Iowa, USA.

Toelihere, M.R. 1974. Semen Beku. Institut Pertanian Bogor.

Van Domark, N.L., W.J. Miller, W.C. Kinney Jr., G. Rodriguez, M.E. Fiedman. 1957. Preservation of bull semen at subzero temperatures. Illinois Agri. Expt. Sta. Bull., 621.

Wiggin, H.B., J.O. Alnquist. 1975. Effect of glycerol equilibration time and thawing rate upon acrosomal maintenance and motility of bull spermatozoa frozen in plastic straw. J. Anim. Sci., 40 : 302.

Ucapan terima kasih.

Terima kasih yang sebesar-besarnya kami sampaikan kepada Direktorat Pengembangan Produksi, Direktorat Jendral Peternakan di Jakarta, atas sumbangan semen beku dalam bentuk straw ox Selandia Baru yang dipakai untuk penelitian ini.

Kepada P.T. Diamond Cold Storage Jakarta, yang telah menyumbangkan CO₂ padat (dry ice) untuk penelitian ini, kami ucapkan banyak terima kasih.

Ucapan terima kasih kami sampaikan pula kepada Dr. Neal L. First dari University of Wisconsin, Amerika Serikat, atas saran-saran dan petunjuknya dalam pelaksanaan penelitian tersebut.