

## **I. PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang dan Masalah**

Sapi Limousin adalah sapi yang pertama kali dikembangkan di Perancis. Sapi ini memiliki perototan yang lebih baik, bulu berwarna coklat tua kecuali di sekitar ambing berwarna putih serta lutut ke bawah dan sekitar mata berwarna lebih muda. Bentuk tubuh jenis sapi ini yaitu besar, panjang, padat, dan kompak.

Keunggulan Sapi Limousin yaitu pertumbuhan badannya sangat cepat, kualitasnya lebih bagus, dan lezat untuk dijadikan makanan sehingga nilai jualnya jauh lebih mahal, dan keuntungan yang didapat oleh peternak atau pedagang akan lebih banyak (Thomas, 1991).

Penerapan teknologi Inseminasi Buatan merupakan alternatif yang paling tepat untuk meningkatkan populasi ternak secara progresif. Untuk menunjang peningkatan efisiensi reproduksi peternakan dapat dilakukan melalui teknik IB dengan menggunakan semen beku (Toelihere, 1993). IB terbukti memiliki keunggulan dibandingkan dengan kawin alami, beberapa diantaranya adalah penggunaan pejantan unggul sehingga mempercepat perbaikan genetik, penghematan biaya, dan pencegahan penularan penyakit.

Tingkat keberhasilan pembuatan semen beku dapat dilihat dari kualitas semen beku yang dihasilkan. Semen beku adalah semen yang telah diencerkan kemudian

dibekukan dan disimpan pada kontainer N<sub>2</sub> cair suhu -196<sup>0</sup>C. Tahapan proses pembekuan yaitu *pre freezing* dan *freezing*. Proses *pre freezing* (pembekuan awal) yaitu *straw* yang berisi semen disusun pada rak *straw* dan ditempatkan dalam uap N<sub>2</sub> cair sekitar 4,5 cm di atas permukaan nitrogen cair, proses ini berlangsung sekitar 9 menit, kemudian dimasukkan langsung ke dalam nitrogen cair. Dengan teknik pembekuan yang semakin baik diharapkan kualitas semen beku setelah *thawing* akan baik pula. *Freezing* merupakan proses penghentian sementara kegiatan hidup sel tanpa mematikan fungsi sel dan proses hidup dapat berlanjut setelah pembekuan dihentikan (Toelihere, 1985).

Pada proses pembekuan semen akan mengakibatkan terjadinya *cold shock* dan perubahan intraseluler yang berkaitan dengan pembentukan kristal-kristal es. Jika suatu larutan dibekukan maka air sebagai pelarut membeku menjadi kristal-kristal es, sedangkan bahan terlarut berakumulasi dalam larutan yang masih ada. Pada saat terbentuk kristal-kristal es tersebut, terjadi penumpukan elektrolit dan bahan terlarut lainnya baik di dalam larutan maupun di dalam sel-sel. Konsentrasi elektrolit yang berlebihan akan melarutkan selubung lipoprotein dinding sel *spermatozoa* sehingga pada waktu *thawing*, permeabilitas membran sel akan berubah dan menyebabkan kematian sel. Masalah pembekuan ini sebagian dapat diatasi dengan menggunakan zat-zat pelindung di dalam media pengencer dan penurunan suhu secara gradual.

Pada umumnya problema fertilitas dengan semen beku pada pusat IB terletak pada perlakuan semen yang tidak wajar (Toelihere, 1993). Banyak faktor yang dapat menurunkan kualitas semen beku mulai dari proses pengolahan, penyimpanan

dalam kontainer, dan distribusi semen beku. Selama penyimpanan semen beku akan mengalami penurunan kualitas apabila tidak dilakukan penanganan dengan baik.

Salamon (1971) menunjukkan ketika semen (0,03 ml) yang diuapkan di atas permukaan nitrogen cair (*pre freezing*) selama 9 menit sebelum dimasukkan ke dalam nitrogen cair akan mempertahankan persentase gerakan individu *spermatozoa* setelah diperiksa *post thawing motility*.

*Pre freezing* adalah proses setelah semen diisikan ke dalam *straw* yang dilakukan dengan cara diletakkan pada *canister* dan digantungkan dalam uap nitrogen cair selama beberapa menit. Tujuan *pre freezing* adalah menghindari terjadinya *cold shock*. Proses *pre freezing* akan memengaruhi gerakan individu atau daya gerak *spermatozoa*, persentase hidup, dan abnormalitas sperma. Lama waktu *pre freezing* menurut beberapa sumber adalah beragam. *Straw* yang telah diisi semen diletakkan pada permukaan nitrogen cair 4 cm dengan suhu berkisar  $-110^{\circ}\text{C}$  sampai  $-120^{\circ}\text{C}$  selama 9 menit (Standar Operasional Pelayanan BIB Ungaran, 2011).

Peraturan Direktur Jenderal Peternakan Nomor :1220/HK.060/F/12/2007 Tentang Petunjuk Teknis Produksi dan Distribusi Semen Beku menunjukkan proses *pre freezing* dilakukan dalam storage kontainer, *straw* disusun dirak dan dilakukan 2—4 cm di atas permukaan  $\text{N}_2$  cair selama 5—9 menit sedangkan di Balai Inseminasi Buatan Daerah (BIBD) Lampung melakukan proses *pre freezing* dengan jarak *straw* di atas permukaan nitrogen cair yang diterapkan yaitu 4 cm selama 9 menit. Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) Singosari melakukan

proses *pre freezing straw* yang berisi semen diatur pada rak *straw* dan ditempatkan dalam uap N<sub>2</sub> cair sekitar 4,5 cm di atas permukaan nitrogen cair selama 10 menit, kemudian dimasukkan langsung ke dalam nitrogen cair.

Kaiin *et al.*, (2004) menyatakan bahwa ketinggian *straw* dari permukaan nitrogen cair sebesar 10 cm dengan volume nitrogen cair delapan liter menghasilkan motilitas *spermatozoa* sebesar 43%, *spermatozoa* hidup sebesar 39%, dan abnormalitas *spermatozoa* 12%. Belum ada informasi lebih lanjut mengenai jarak *straw* dengan N<sub>2</sub> cair yang terbaik terhadap kualitas semen beku setelah pembekuan sehingga perlu dilakukan penelitian jarak *straw* yang terbaik dengan nitrogen cair pada proses *pre freezing* terhadap kualitas semen beku.

## **B. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. mengetahui pengaruh jarak *straw* (2 cm, 4 cm, 6 cm, 8 cm, dan 10 cm) dengan nitrogen cair pada proses *pre freezing* terhadap kualitas semen beku Sapi Limousin;
2. mengetahui jarak *straw* yang terbaik dengan nitrogen cair pada proses *pre freezing* terhadap kualitas semen beku Sapi Limousin.

## **C. Kegunaan Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi yang bermanfaat kepada petugas laboratorium di berbagai Balai Inseminasi Buatan mengenai jarak

*straw* yang terbaik dengan nitrogen cair terhadap kualitas semen beku sehingga layak untuk proses IB.

#### **D. Kerangka Pemikiran**

Sapi Limousin merupakan jenis sapi potong keturunan Bos taurus yang berhasil dijinakkan dan dikembangkan di Perancis. Sapi ini dapat beradaptasi pada kondisi yang kritis (musim dingin), mempunyai karakter keindukkan, daya hidup tinggi, dan mudah dipelihara seperti sapi potong pada umumnya. Sapi Limousin termasuk sapi berbadan besar, tingginya 1,5 meter, dan mempunyai bulu yang sangat tebal dan kompak menutupi seluruh tubuhnya. Keunggulannya dapat digunakan sebagai sapi pekerja karena kekuatan dan kecepatannya dalam pengolahan tanah. Harga Sapi Limousin lebih mahal tetapi dari hari ke hari permintaan hasil ternak Sapi Limousin semakin meningkat (Sudarmono, 2006).

Upaya peningkatan populasi Sapi Limousin diperlukan teknologi yang tepat dan efisien yaitu menggunakan teknik IB. IB adalah pemasukan semen ke dalam saluran kelamin hewan betina dengan menggunakan alat-alat buatan manusia. IB merupakan bioteknologi dalam pengembangbiakkan ternak dan merupakan cara yang paling baik dan cepat untuk menyebarkan bibit unggul (Toelihere, 1993).

Semen yang digunakan dalam IB yaitu 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 ini yang menjadikan IB sebagai teknologi yang cepat dikenal oleh masyarakat luas

(Partodiharjo, 1992). Semen beku adalah semen yang telah diencerkan sesuai dosis dengan pengencer yang mengandung krioprotektan (gliserol), dibekukan dan disimpan pada kontainer N<sub>2</sub> cair suhu -196<sup>0</sup>C.

Penggunaan semen beku untuk pelaksanaan IB dilakukan secara intensif dengan tujuan meningkatkan produksi ternak tetapi hasil kebuntingan yang diperoleh di lapangan sangat bervariasi dan relatif masih rendah. Hal-hal yang dapat menyebabkan rendahnya kualitas semen beku diantaranya suhu lingkungan, *thawing*, jarak *straw* dari permukaan nitrogen cair, cara penyimpanan semen beku, dan penambahan nitrogen cair (Toelihere, 1993).

Pada proses pembekuan, jarak *straw* akan memengaruhi kualitas semen beku namun belum ada informasi lanjut mengenai jarak *straw* yang terbaik dengan nitrogen cair setelah pembekuan. Proses pembekuan pada temperatur -196<sup>0</sup>C akan menurunkan kualitas *spermatozoa* 30% *spermatozoa* akan mati selama proses pendinginan dan pembekuan (Goldman *et al.*, 1991). Menurut Hammerstedt (1993), selama proses pendinginan dan pembekuan *spermatozoa* yang masih mampu bertahan hidup sangat sensitif. Tujuan dari proses pendinginan dan pembekuan adalah untuk menghambat aktifitas *spermatozoa* sehingga menghemat penggunaan energi metabolik yang akhirnya dapat memperpanjang daya hidup *spermatozoa*.

*Pre freezing* merupakan salah satu tahapan proses pembekuan. Proses dalam *pre freezing* dilakukan dengan cara meletakkan *straw* pada uap nitrogen (N<sub>2</sub>) cair, menggunakan *boks styrofoam* yang berukuran panjang x lebar x tinggi masing-masing 60 x 40 x 30 cm dengan suhu -110<sup>0</sup>C sampai dengan -120<sup>0</sup>C

selama 9 menit. Suhu tersebut diperoleh bila *straw* yang disusun di atas rak yang ditempatkan kurang lebih 4 cm di atas permukaan N<sub>2</sub> cair. Hal ini bertujuan sebagai proses adaptasi semen untuk tahap selanjutnya, supaya tidak terjadi *temperatur shock*, yang dapat menyebabkan abnormalitas atau kematian *spermatozoa* di dalam semen. Setelah pembekuan, semen beku disimpan di dalam *storage* kontainer yang berisi N<sub>2</sub> cair -196<sup>0</sup> C (Nilna, 2010).

Maxwell dan Watson (1996) menunjukkan pada saat pembekuan terjadi kerusakan membran plasma *spermatozoa* akibat terbentuknya peroksidasi lipid. Keadaan ini terjadi karena membran *spermatozoa* banyak mengandung asam laktat tak jenuh yang sangat rentan terhadap kerusakan peroksidasi. Menurut Parrish (2003), semen akan mengalami penurunan kualitas sekitar 10—40% pada saat pembekuan.

Menurut Said *et al* (2004), ketinggian *straw* dari permukaan nitrogen cair sebesar 10 cm dengan volume nitrogen cair delapan liter menghasilkan motilitas sperma sebesar 43% sehingga layak digunakan dalam proses IB karena masih diatas nilai minimal 40% yang ditentukan oleh Badan Standarisasi Nasional tahun 1998.

Purwasih *et al.*, (2013), menunjukkan ketinggian *straw* yang berisi semen diletakkan pada jarak  $\pm 4$  cm di atas nitrogen cair (*pre freezing*) pada suhu -110<sup>0</sup>C menghasilkan gerakan individu *spermatozoa* 2,27 %, *spermatozoa* hidup 41,72 % artinya semen beku yang layak untuk diinseminasikan yaitu memiliki persentase hidup  $\geq 40\%$  (Standar Operasional Pelayanan BIB Sidomulyo Ungaran, 2011).

Menurut Amin *et al* (1999), lama waktu *pre freezing* adalah 10 menit dan ketinggian *straw* 8 cm di atas permukaan nitrogen cair (suhu -130<sup>0</sup>C).

Menurut Imran (2012), jarak ketinggian *straw* dengan permukaan nitrogen cair sangat berpengaruh terhadap motilitas *spermatozoa* semen beku. Jarak ketinggian yang memberikan hasil motilitas *spermatozoa* yang baik pada jarak ketinggian *straw* dengan permukaan nitrogen cair 2 cm, sedangkan untuk lama waktu dan intensitas keduanya (jarak ketinggian *straw* dengan permukaan nitrogen cair dan lama waktu) pada tahap *pre freezing* tidak berpengaruh terhadap motilitas *spermatozoa* semen beku.

Pada proses pembekuan semen akan mengakibatkan terjadinya *cold shock* dan perubahan intraseluler akibat pengeluaran air maka terjadi pembentukan kristal-kristal es yang berpengaruh terhadap kualitas *spermatozoa*. Masalah ini secara langsung akan menyebabkan penurunan kualitas semen beku yang dihasilkan. Jarak *straw* mempunyai pengaruh besar terhadap keadaan *spermatozoa* khususnya keutuhan *spermatozoa* dalam semen. Jarak antara *straw* dengan nitrogen cair yang berbeda mengakibatkan temperatur sekitar *straw* berbeda yaitu temperatur yang rendah dapat menyebabkan *spermatozoa* yang berada dalam *straw* akan mengalami *cold shock* dan temperatur yang tinggi dapat mematikan *spermatozoa* yang berada dalam *straw* (Kaiin *et al.*, 2004).

Jarak *straw* dengan nitrogen cair pada proses *pre freezing* akan memengaruhi kualitas semen beku Sapi Limousin sehingga apabila telah diketahui jarak *straw* yang terbaik dengan nitrogen cair, maka penelitian ini dapat memberikan manfaat kepada petugas laboratorium di berbagai Balai Inseminasi Buatan.



## **E. Hipotesis**

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. terdapat pengaruh jarak *straw* dengan nitrogen cair pada proses *pre freezing* terhadap kualitas semen beku Sapi Limousin;
2. terdapat salah satu jarak *straw* yang memberikan pengaruh terbaik terhadap kualitas semen beku Sapi Limousin.