

Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Domba Ekor Gemuk pada Berbagai Konsentrasi Ion Perak (Ag^+) dalam Pengencer Kuning Telur Sitrat Air Kelapa Muda**Motility and Viability Thick Tail Ram's Spermatozoa on Various Silver Ion (Ag^+) Concentration in Egg Yolk Citrate Coconut Water Assortment Extender**¹Hardijanto, ²Isma Ari Vidyana, ¹Anwar Ma'ruf¹Fakultas Kedokteran Hewan Unair²PPDH Fakultas Kedokteran Hewan Unair

Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya – 60115

Telp. 031-5992785, Fax. 031-5993014

Email : vetunair@telkom.net

Abstract

The aims of this research was to find out the influence of various silver ion concentration in egg yolk citrate coconut water assortment extender in motility and viability of thick tail ram's spermatozoa. Semen was divided into three groups of extenders. Control Group (P_0) using Egg Yolk Citrate Coconut Water-Antibiotic, group 1 (P_1) using Egg Yolk Citrate Coconut Water-Silver Ion 1,5 ppm, group 2 (P_2) using Egg Yolk Citrate Coconut Water-Silver Ion 0,75 ppm, group 3 (P_3) using Egg Yolk Citrate Coconut Water-Silver Ion 0,375 ppm and group 4 (P_4) using Egg Yolk Citrate Coconut Water-Silver Ion 0,1875 ppm. The results showed that motility of P_0 , P_1 , P_2 , P_3 and P_4 was not significantly different ($p>0,05$). Viability of P_0 , P_1 , P_2 , P_3 and P_4 was not significantly different ($P>0,05$) until fourth day but P_0 was significantly different ($p>0,05$) in fifth and sixth day. The conclusion of this experiment is Various Silver Ion in Egg Yolk Citrate Coconut Water assortment extender can not influence in motility of thick tail ram's spermatozoa and can not influence in viability of ram's spermatozoa until fourth day but different influence on fifth and sixth day.

Keywords : Silver Ion, Egg Yolk, Citrate, Ram's Spermatozoa**Pendahuluan****Latar Belakang**

Pengembangan potensi ternak domba meliputi perbaikan makanan ternak, pengendalian penyakit dan perbaikan mutu genetik. Adapun perbaikan mutu genetik dapat di tunjang melalui suatu program yaitu Inseminasi Buatan (IB) yang merupakan metode baru di bidang bioteknologi. IB memudahkan peternak untuk mengawinkan ternak tanpa harus memiliki ternak jantan. Tomaszewska dkk, (1991) berpendapat bahwa melalui IB dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan efisiensi reproduksi ternak, dimana semen dari satu ekor pejantan dapat dipergunakan untuk menginseminasi sampai 100 ekor betina perejakulasi.

Salah satu faktor yang mendukung keberhasilan IB adalah tingginya kualitas semen yang dipergunakan (Norman *et al.*, 2003). Namun keberhasilan IB pada ternak

tidak hanya tergantung pada kualitas dan kuantitas semen yang diejakulasikan seekor pejantan, tetapi tergantung juga kepada kesanggupan untuk mempertahankan kualitas dan memperbanyak volume semen tersebut untuk beberapa saat lebih lama. Usaha untuk mempertahankan kualitas semen dan untuk memperbanyak jumlah pelayanan hasil dari setiap ejakulasi pejantan unggul adalah dengan melakukan pengenceran semen menggunakan beberapa bahan pengencer (Solihati dan Kune, 2009).

Upaya untuk menghasilkan semen beku yang berkualitas tinggi dibutuhkan bahan pengencer semen yang mampu mempertahankan kualitas spermatozoa selama proses pendinginan, pembekuan, maupun pada saat thawing (Arifiantini dan Yusuf, 2010). Kuning telur sitrat air kelapa muda adalah salah satu pengencer yang memenuhi kriteria sebagai bahan pengencer yang tidak beracun,

berenergi, dan mampu mempertahankan kualitas air mani, bersifat sebagai pelindung, memiliki keasaman yang sesuai dan isotonis terhadap sel, memberikan keseimbangan mineral yang baik untuk kehidupan sel spermatozoa. (Hardijanto dkk., 2009)

Upaya untuk melindungi semen dari infeksi mikroorganisme, selain menggunakan antibiotika telah ditemukan antimikroba baru yang mampu meniadakan pengaruh infeksi bakteri yang efektif seperti antibiotika yaitu larutan ion perak. Lebih jauh larutan ion perak diyakini tidak berpengaruh terhadap sel-sel tubuh namun bisa membunuh bakteri (Wakefield, 2004).

Berdasarkan uraian diatas dan demi keamanan pemakaian antimikroba larutan ion perak penulis akan meneliti apakah pemberian berbagai konsentrasi larutan ion perak dalam pengencer kuning telur sitrat air kelapa muda berpengaruh terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa domba.

Materi dan Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Inseminasi Buatan (IB), Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya pada bulan April - Mei 2011.

Bahan penelitian yang digunakan ialah semen yang sehat dari domba ekor gemuk, zat warna eosin-negrosin yang digunakan sebagai pewarnaan spermatozoa, Larutan Ion Perak (Ag^+), kuning telur, natrium sitrat, air kelapa muda, aquadest steril, alkohol 70%, antibiotik.

Penampungan semen

Penampungan semen dilakukan dengan menyiapkan betina pemancing dan diikat pada kandang jepit. Pejantan yang akan diambil semennya didekatkan pada pemancing, tapi dicegah dulu agar tidak menaiki. Lakukan gerakan mendekat dan menjauhkan pejantan dari pemancing 2 -3 kali dan diputar-putar di sekitar betina guna merangsang libidonya lebih besar dan volume semennya bertambah. Sementara operator memeriksa suhu dalam saluran vagina buatan antara 42-45°C dan mengambil posisi di belakang sebelah kanan pemancing. Gunakan tangan kanan memegang vagina buatan miring ke atas dengan kemiringan sekitar 45° dengan garis horizontal.

Pegang preputium pejantan tepat di pangkal penis dengan tangan kiri dan arahkan

masuk ke dalam vagina buatan saat pejantan naik dan melakukan gerakan ejakulasi.

Pembuatan Sampel Perlakuan Penelitian

Pembuatan pengencer atau diluter Kuning Telur Sitrat Air Kelapa Muda (KTSAKM) dengan perbandingan Sitrat dan Air Kelapa Muda yaitu 3:1 sedangkan perbandingan Sitrat Air Kelapa Muda dan Kuning Telur adalah 4:1. Pengencer yang digunakan dalam penelitian ini yaitu P_0 yang terdiri atas pengencer Kuning Telur Sitrat Air Kelapa Muda (KTSAKM) yang ditambahkan antibiotik Penicilin Streptomycin sebagai kontrol. P_1 yang terdiri atas pengencer Larutan Ion Perak dengan konsentrasi 1,5 ppm dan Kuning Telur Sitrat Air Kelapa Muda (KTSAKM) yang disebut campuran A, P_2 yang terdiri atas $\frac{1}{2}$ campuran A di tambah Kuning Telur Sitrat Air Kelapa Muda (KTSAKM) dengan perbandingan 1:1 yang disebut campuran B (konsentrasi ion perak 0,75 ppm), P_3 yang terdiri atas $\frac{1}{2}$ campuran B ditambah KTSAKM dengan perbandingan 1:1 yang disebut campuran C (konsentrasi ion perak 0,375 ppm) dan P_4 yang terdiri atas campuran C di tambah KTSAKM dengan perbandingan 1:1 yang disebut campuran D (konsentrasi ion perak 0,1875). Kemudian mencampurkan semen pada setiap tabung pengencer dengan perbandingan 1 : 10.

Pengamatan Penelitian

Pengamatan untuk mengetahui motilitas dan viabilitas spermatozoa dilakukan setelah perlakuan setiap hari pada waktu yang sama dan uji dihentikan setelah disetiap lapangan pandang mikroskop tidak tampak lagi adanya motilitas spermatozoa. Viabilitas spermatozoa dihitung dalam hari sedangkan motilitas dihitung dalam persen (%). Dalam penelitian ini parameter yang diamati adalah sebagai berikut:

a. Motilitas spermatozoa

Penilaian dilakukan berdasarkan persentase motilitas atau gerakan individu spermatozoa. Dalam penelitian ini yang dinilai adalah spermatozoa yang bergerak maju ke depan (progresif) karena gerakan spermatozoa yang memenuhi syarat adalah gerakan aktif maju ke depan (Hardijanto dkk., 2009).

Pemeriksaan motilitas atau gerakan individu spermatozoa dilakukan di dalam suhu kamar agar spermatozoa mempunyai pergerakan yang optimal. Pemeriksaan ini

dilakukan dengan alat bantu pipet, gelas obyek, gelas cover dan mikroskop pembesaran 400 kali.

b. Viabilitas spermatozoa

Jumlah spermatozoa yang hidup dihitung dengan cara meneteskan air mani pada objek glass yang bersih lalu dicampur dengan zat warna Eosin-Negrosin kemudian dibuat preparat ulas. Pengamatan mikroskopis dilakukan pada spermatozoa yang hidup dan mati pada beberapa lapangan pandang kemudian dilakukan perhitungan atas 100 spermatozoa dengan perbesaran 400 kali. Spermatozoa yang hidup tidak akan terwarnai oleh zat warna. Spermatozoa yang telah mati karena rusak akan berwarna merah-keunguan.

Guna menentukan persentase spermatozoa yang hidup dengan menggunakan rumus:

$$\frac{\text{Jumlah spermatozoa yang hidup}}{100} \times 100\%$$

(Hardijanto dkk.,2009).

Variabel Penelitian

Variabel Bebas : Jenis bahan pengencer yaitu penambahan kuning telur sitrat air kelapa muda dengan larutan ion perak pada setiap perlakuan.

Variabel tergantung : Motilitas dan viabilitas spermatozoa.

Variabel kendali : Umur domba dan suhu penyimpanan.

Analisis Data Penelitian

Data yang diperoleh dari penelitian disusun dalam satu tabel, selanjutnya dianalisis dengan menggunakan *Analysis of Variant* (ANOVA) One Way yang dilanjutkan ke uji Tukey untuk mengetahui perbedaan yang nyata antar perlakuan (Kusriningrum, 2008).

Hasil dan Pembahasan

Tabel 1 Hasil Pemeriksaan Semen Domba Secara Makroskopis

Ulangan	Volume	Bau	Warna	pH	Konsistensi
1	1.5	Khas	Putih susu	6.5 – 7	Kental
2	1.6	Khas	Putih susu	6.5 – 7	Kental
3	1.6	Khas	Putih susu	6.5 – 7	Kental
4	1.8	Khas	Putih susu	6.5 – 7	Kental
5	1.3	Khas	Putih susu	6.5 – 7	Kental
6	1.6	Khas	Putih susu	6.5 – 7	Kental
7	1.6	Khas	Putih susu	6.5 – 7	Kental
Standard	0.5 – 2	Khas	Putih bersih – pekat/krem	6.4 – 6.8	Kental

Keterangan : pH = potential of Hydrogen

Tabel 2 Hasil Pemeriksaan Spermatozoa Domba secara Mikroskopis

Penampungan	Konsentrasi (cara Rusia)	SH (%)	SA (%)	Gerakan Individu	Gerakan Massa
1	D	90	3	P	+++
2	D	90	4	P	+++
3	D	89	3	P	+++
4	D	94	5	P	+++
5	D	93	4	P	+++
6	D	93	4	P	+++
7	D	97	4	P	+++
Standard	D	90	< 20	P	+++

Keterangan :

SH : Spermatozoa Hidup

SA : Spermatozoa Abnormal

D : Densum

+++ : Gelombang kecil sampai besar yang tebal dan gelombang dalam jumlah banyak dan bergerak cepat

Pemeriksaan makroskopis semen domba pada tabel 1 sesuai dengan standart normal yaitu volume semen domba yang diperoleh dari setiap ejakulasi pada rata-rata 1 ml (0,5 – 2 ml). Semen domba mempunyai volume rendah tetapi konsentrasi sperma tinggi sehingga memperlihatkan warna krem atau putih susu. Konsistensi semen domba yang normal relatif pekat/kental, oleh karena itu semen domba mengandung spermatozoa yang relatif banyak. Bau semen domba relatif tajam dan mempunyai bau khas. Semen domba berwarna putih bersih sampai pekat/krem dengan rentang pH 6,4 – 6,8 (Hardijanto dkk., 2009)

Pemeriksaan mikroskopis semen domba pada tabel diatas menunjukkan konsentrasi dengan nilai Densum (D). Persentase hidup

spermatozoa domba yaitu antara 89-97%. Persentase abnormalitas spermatozoa domba yaitu antara 3-5%, yang berarti selama abnormalitas spermatozoa belum mencapai 20% dari sampel semen, maka semen masih dapat dipakai untuk inseminasi. Gerakan individu P menunjukkan gerakan spermatozoa maju kedepan atau progresif dan penilaian positif tiga pada gerakan massa gelombang yang besar dan banyak serta cepat yang artinya memberikan gambaran yang jelas bahwa semen tersebut mengandung spermatozoa hidup yang banyak dan aktif. Data di atas menunjukkan sampel memenuhi syarat kelayakan untuk digunakan dalam penelitian (Hardijanto dkk., 2009).

Pemeriksaan Persentase Motilitas Spermatozoa

Tabel 3 Rata-rata persentase motilitas spermatozoa pada hari pertama sampai hari ke enam

P	Hari 1 (X ± SD)	Hari 2 (X ± SD)	Hari 3 (X ± SD)	Hari 4 (X ± SD)	Hari 5 (X ± SD)	Hari 6 (X ± SD)
P ₀	80,00±2,887	62,71±3,684	51,00±6,110	36,57±4,894	16,29±3,498	4,14±1,215
P ₁	75,00±23,452	67,86±14,392	49,29±17,895	27,29±15,327	12,43±8,142	3,86±3,436
P ₂	80,71±19,024	72,14±11,495	45,71±16,183	28,86±15,942	14,00±11,489	3,71±5,197
P ₃	87,11±5,669	75,00±12,910	44,71±17,095	29,00±14,787	14,29±8,864	5,14±3,716
P ₄	83,86±15,550	73,57±19,940	47,14±21,185	33,29±20,426	16,14±8,214	5,57±3,505

Menurut data diatas menunjukkan bahwa pengencer kuning telur sitrat air kelapa muda yang ditambahkan larutan ion perak berbagai konsentrasi yang dicampur semen domba dengan perbandingan 1:10 dapat mempertahankan motilitas spermatozoa domba sampai hari keenam. Tetapi motilitas yang bagus (didas 40%) hanya pada hari pertama sampai hari ketiga sedangkan hari keempat sampai hari keenam motilitas yang diperoleh sudah mengalami penurunan yang sangat drastis.

Temperatur lingkungan juga sangat berpengaruh pada pergerakan spermatozoa. Pada penelitian ini spermatozoa didiamkan pada lemari pendingin dengan suhu 5 °C

akibatnya motilitas individu pada semen yang telah diencerkan menunjukkan adanya penurunan. Penurunan ini dapat disebabkan oleh penurunan suhu lingkungan dimana semen disimpan pada suhu 5 °C. Disamping itu juga terjadi perubahan lingkungan yang berbeda dari kondisi lingkungan cair hasil sekresi kelenjar kelamin jantan menuju cairan pengencer yang digunakan serta kondisi proses keseimbangan spermatozoa selama proses pengenceran. Keadaan ini dapat mengakibatkan terjadi shock pada spermatozoa sehingga motilitas individu menurun. Evans dan Maxwell (1987) menyatakan bahwa penurunan temperatur akan menurunkan metabolisme spermatozoa

yang berakibat pada menurunnya produksi energi mekanik (pergerakan) atau sebagai energi kimiawi (biosintesis).

Supriatna (1993) menyatakan bahwa akibat proses adaptasi spermatozoa terhadap konsentrasi bahan pengencer dapat mengakibatkan gangguan permeabilitas membrane, menurunkan aktivitas metabolisme sel, kerusakan sel dan menurunkan motilitas individu spermatozoa. Dalam menjalankan aktifitas metabolisme dihasilkan asam laktat,

bila tidak tersedia energi untuk merombak kembali asam laktat menjadi energi yang dibutuhkan untuk aktifitas gerak spermatozoa maka akan menyebabkan penumpukan asam laktat yang dapat menurunkan pH (Butterworth dan Heinemann, 1993). Menurut Toelihere (1993), kadar asam laktat yang cukup tinggi akan menghambat aktifitas metabolisme dan juga merupakan racun bagi spermatozoa.

Pemeriksaan Viabilitas Spermatozoa

Tabel 4 Rata-rata persentase viabilitas spermatozoa pada hari pertama sampai hari ke enam

P	Hari 1 (X ± SD)	Hari 2 (X ± SD)	Hari 3 (X ± SD)	Hari 4 (X ± SD)	Hari 5 (X ± SD)	Hari 6 (X ± SD)
P ₀	88,86±2,734 ^a	74,86±3,716 ^a	61,86±4,634 ^a	53,71±2,563 ^a	51,00±2,769 ^a	51,00±2,769 ^a
P ₁	82,14±15,258 ^a	77,14±12,006 ^a	59,71±14,637 ^a	45,43±15,566 ^a	34,14±13,80 ^b	22,14±7,244 ^b
P ₂	87,86±12,089 ^a	79,43±11,603 ^a	64,57±8,810 ^a	48,57±10,390 ^a	34,71±8,499 ^b	21,71±8,696 ^b
P ₃	90,57±4,036 ^a	83,29±3,773 ^a	63,00±15,556 ^a	47,86±15,475 ^a	35,86±10,90 ^{ab}	20,29±7,041 ^b
P ₄	90,57±7,829 ^a	83,00±8,641 ^a	68,29±13,537 ^a	52,29±15,359 ^a	38,71±11,66 ^{ab}	21,86±4,947 ^b

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 0,05$).

Penelitian ini menunjukkan pada semua parameter kualitas semen yang diamati spermatozoa tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$) sampai hari keempat dan menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) dari tahap semen segar ke tahap setelah enam hari penyimpanan. Keadaan ini menunjukkan bahwa selama proses pengolahan dan penyimpanan terjadi perubahan fisik dan biokimia dari spermatozoa yang digunakan. Menurut Maxwell dan Watson (1996) yang dikutip oleh Sahlaini, E. (2008) pada proses berlangsungnya pengenceran semen dapat merusak membran spermatozoa sehingga mengakibatkan spermatozoa mati. Masalah yang sering timbul biasanya rusaknya membran plasma spermatozoa akibat terbentuknya peroksidasi lipid. Rusaknya membran plasma akan menyebabkan penurunan motilitas spermatozoa dan akhirnya dapat berpengaruh terhadap daya tahan hidup spermatozoa.

Kesimpulan

1. Pengencer kuning telur sitrat air kelapa muda yang mengandung antibiotik dan berbagai konsentrasi ion perak (Ag^+) tidak berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa domba.
2. Pengencer kuning telur sitrat air kelapa muda yang mengandung antibiotik dan berbagai konsentrasi ion perak (Ag^+) tidak berpengaruh terhadap viabilitas spermatozoa domba setelah 1 sampai dengan 4 hari namun menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata terhadap viabilitas spermatozoa domba setelah 5 sampai dengan 6 hari disimpan pada suhu 5°C.

Daftar Pustaka

- Arifiantini R. I dan Yusuf. 2010. Keberhasilan Penggunaan Tiga Pengencer dalam Dua Jenis Kemasan pada Proses Pembekuan Semen Sapi FRISIEN HOLSTEIN.
- Butterworth and Heinemann, 1993. In Vitro Cultivation of Animal Cell. Linacre House. Jordan Hill. Oxford.

- Evans, G. and W.M.C. Maxwell. 1987. Salomon Artificial Insemination of Sheep and Goat. Departement of Animal Husbandry. Sydney. 85-141
- Hardijanto, T. Sardjito, T. Hernawati, S. Susilowati, dan T.W. Suprayogi. 2009. Penuntun Pratikum Fisiologi dan Teknologi Reproduksi (Inseminasi Buatan). Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
- Kusriningrum. 2008. Perancangan Percobaan. Airlangga University Press. Surabaya. 11-14
- Maxwell, W.M.C and Watson. 1996. Recent Progress in The Preservation of Ram Semen. Animal Reproduction Research and Practise. 13th International Cogres on Animal Reproduction. Ston and Evan (Eds). Elsevier. Australia.
- Norman, H.D., R.L. Powell, J.R. Wright and CG. Sattler. 2003. Timeliness and effectiveness of Progeny Testing Throught Artificial Insemination.
- Solihati, N. dan P. Kune. 2009. Pengaruh Jenis Pengencer Terhadap Motilitas dan Daya Hidup Spermatozoa Semen Cair Sapi Simmental. Universitas Nusa Cendana. [12 Oktober 2009]
- Supriatna, I. 1993. Metode Dasar dalam Pembekuan Embrio Mamalia. Penerbit ITB. Bandung.
- Toelihere, M.R. 1993. Inseminasi Buatan pada Ternak. Angkasa Bandung. Bandung.
- Tomaszewska, M.W., I.K Sutama, I.G Putu, dan T.D. Chaniag. 1991. Reproduksi, Tingkah Laku dan Produksi Ternak di Indonesia. P.T. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Wakefield, M.A. 2004. Technical Data in : Ag ION is a cleaner world with Engineered Antimicrobial Solutions.