

Motilitas dan Persentase Hidup Spermatozoa Sapi Friesian Holstein *Post Thawing* Dalam Pengencer Skim Kuning Telur, Tris Kuning Telur dan Andromed®**Motility and Life Percentage of Friesian Holstein Bull's *Post Thawing* Sperms In Egg Yolk Skim, Egg Yolk Tris and Andromed® Extenders****¹Pudji Srianto, ²Siti Fatimah, ¹R. Budi Utomo, ¹Indah Norma Triana**¹Fakultas Kedokteran Hewan Unair²PPDH Fakultas Kedokteran Hewan Unair

Kampuc C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya – 60115

Telp. 031-5992785, Fax. 031-5993014

Email : vetunair@telkom.net

Abstract

This research was aimed to determine motility and life percentage of Friesian Holstein bull's *post thawing* sperms in egg yolk skim, egg yolk tris and AndroMed® extenders. This research used Friesian Holstein bull's fresh semen that collected in artificial vagina and divided to three treatments. The first treatment (P1) was semen and egg yolk skim. The second treatment (P2) was semen and egg yolk tris extender. The third treatment (P3) was semen and AndroMed® extender. The data was analyzed by ANAVA (Analysis of Variant) and the result showed that three diluters had no significant difference between three treatment ($P>0,05$). That three treatments were capable to maintain the motility and life percentage of sperms.

Keywords : Motility, Friesian Holstein Bull's, Egg yolk, Tris, AndroMed®**Pendahuluan****Latar Belakang**

Peningkatan mutu ternak merupakan salah satu aspek utama dalam pengembangan peternakan di Indonesia karena usaha peternakan merupakan sektor ekonomi yang penting baik di negara yang beriklim sedang maupun di negara-negara tropis seperti negara kita. Perkembangan teknologi semakin berkembang pesat dewasa ini, tidak ketinggalan perjalanan bioteknologi yang semakin berkembang pesat pula. Salah satunya yaitu teknologi Inseminasi Buatan (IB).

Kini di Indonesia memiliki dua Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) Nasional yang terdapat di Lembang (Jawa Barat) dan Singosari (Jawa Timur). Adanya UU no. 22 tahun 1999 mengenai otonomi daerah yang memberikan kewenangan dalam mengatur dan memajukan daerahnya sendiri tanpa adanya campur tangan pemerintah pusat, maka pemerintah daerah terpacu dalam mendirikan

balai inseminasi buatan skala lokal yang dikenal dengan nama BIBD (Balai Inseminasi Buatan Daerah) seperti di Lampung, Palembang, Padang, Medan, Bali, Jawa Tengah, Kalimantan Selatan dan Blora (Arifiantini, 2004)

Menurut Toelihere (1993), untuk menghasilkan semen beku yang berkualitas tinggi dibutuhkan bahan pengencer semen yang mampu mempertahankan kualitas spermatozoa selama proses pendinginan, pembekuan, maupun pada saat *thawing*. Semen yang tidak diencerkan, sukar mempertahankan hidupnya lebih dari 24 jam, walaupun disimpan dalam suhu rendah. Karena spermatozoa yang senantiasa bergerak aktif, maka cadangan energi di dalam semen yang tidak diencerkan akan cepat habis digunakan. Selain itu semakin meningkatnya kadar asam laktat yang terbentuk makin meningkat derajat keasaman semen yang bersifat racun terhadap spermatozoa. Karena itu, bahan pengencer semen beku harus

mengandung sumber nutrisi, bahan bersifat *buffer*, bahan anti *cold shock*, antibiotik, dan krioprotektan yang dapat melindungi spermatozoa selama proses pembekuan dan *thawing*. Setiap jenis pengencer umumnya memiliki komponen yang berbeda sehingga dari setiap pengencer memiliki kemampuan dan cara yang berbeda dalam mendukung kelangsungan hidup spermatozoa (Hardijanto dkk, 2010).

Dewasa ini telah dikenal beberapa macam pengencer semen yang sudah sering digunakan di Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) baik di dalam maupun di luar negeri. Pengencer-pengencer tersebut berupa : pengencer tris kuning telur yang biasa digunakan di BBIB Singosari, Natrium Sitrat, susu skim kuning telur selain digunakan di BBIB lembang juga digunakan oleh FKH Universitas Airlangga, susu segar, laktosa, dan beberapa merek dagang pengencer komersial (siap pakai), seperti Biladyl, Triladyl, Laiciphos, Biociphos plus dan AndroMed®.

Materi dan Metode Penelitian

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Taman Ternak Pendidikan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, desa Tanjung kecamatan Kedamean kabupaten Gresik. Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan September sampai Desember 2010.

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan penelitian meliputi: semen segar dari pejantan sapi FH, pengencer skim kuning telur, tris kuning telur dan Andromed®, larutan pewarna eosin-negrosin, nitrogen cair dalam container, air hangat (37°C), alkohol 70%, aquadest.

Alat-alat penelitian meliputi : vagina buatan, tabung penampung semen, thermometer, kertas indikator pH, mikroskop, spektrofotometer, gelas objek, gelas penutup, micropipet, pipet, batang pengaduk gelas, timbangan analitik, labu erlenmeyer, beaker glass, gelas ukur, lemari es, *cool top*, aluminium foil, rak besi, container gas nitrogen cair, mini straw, *filling* dan *sealing machine*.

Penampungan dan Evaluasi Semen

Penampungan semen dilakukan dua kali dalam satu minggu pada sore hari menggunakan vagina buatan. Semen yang

diperoleh dilakukan pemeriksaan dan evaluasi secara makroskopis dan mikroskopis. Evaluasi secara makroskopis meliputi pemeriksaan volume (ml), konsistensi semen, warna, bau dan derajat keasaman. Pemeriksaan mikroskopis meliputi : gerakan massa, gerakan individu berupa motilitas dan kecepatan gerak dan jumlah konsentrasi spermatozoa untuk menentukan jumlah pengencer yang nanti akan ditambahkan. Konsentrasi spermatozoa dihitung dengan menggunakan alat yaitu spektrofotometer.

Proses Pembuatan Semen Beku

Semen yang berkualitas tinggi dibagi tiga bagian dan masing-masing dilarutkan dengan pengencer skim kuning telur, tris kuning telur dan Andromed® yang dibuat pada hari penampungan semen. Pengenceran dilakukan satu tahap pada temperatur ruang. Setelah proses pengenceran selesai, maka dilakukan pemeriksaan secara mikroskopis kembali terhadap mortalitas dan motilitas sel spermatozoa yang bergerak aktif maju ke depan (progresif) dengan nilai minimal 70%.

Proses *filling* dan *sealing* dilakukan dalam *cool top* yang bersuhu 3-5°C. menggunakan mini straw. Straw yang telah dikemas disusun di atas rak, kemudian diletakkan di atas N₂ cair (± 1 cm di atas permukaan N₂ cair), dalam container, prosesing sampai suhunya mencapai -140°C, membutuhkan waktu 9 menit. Setelah pre freezing, segera straw dimasukkan ke dalam goblet dan direndam dalam N₂ cair (-196°C) dalam *storage container* (Ditjennak, 2000).

Pemeriksaan Kualitas Semen Beku *Post Thawing*

Pemeriksaan kualitas semen beku *post thawing* terdiri dari pemeriksaan *post thawing* motility dan persentase hidup spermatozoa. Standar minimal *post thawing* untuk sapi persentase hidup 40 % dengan gerakan sperma 3 ditulis 40/3 dapat dipertimbangkan bila 40/2 (Ditjennak, 2000). Pemeriksaan persentase hidup *post thawing* spermatozoa menggunakan metode preparat ulas dengan pewarnaan eosin-negrosin.

Analisis Data

Peubah yang diamati yaitu motilitas dan persentase hidup spermatozoa *post thawing*. Menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga perlakuan dan

enam kali ulangan. Data yang diperoleh disusun dalam satu tabel, selanjutnya perbedaan pengaruh antar pengencer dilakukan uji ANAVA, bila terdapat perbedaan yang nyata dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) (Kusriningrum, 2008).

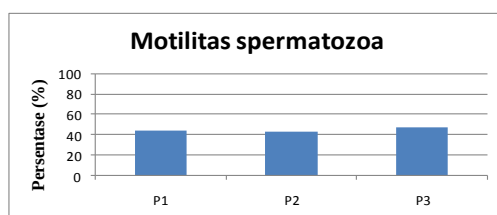
Hasil dan Pembahasan

Keadaan Awal Sampel

Sampel semen yang didapat pada penelitian ini berupa semen dengan volume yang berkisar antara 9-14 ml, warna kuning dengan rata-rata motilitas 80% dan gerakan massa rata +++(3). Berdasarkan hasil tersebut maka sampel dapat diproses lebih lanjut karena semen segar yang diproses menjadi semen beku ialah semen dengan nilai gerakan massa minimal ++(2) dan minimal 70% spermatozoa bergerak aktif ke depan atau progresif (Ditjennak, 2000).

Persentase motilitas progresif spermatozoa *post thawing*

Hasil pemeriksaan persentase motilitas spermatozoa *post thawing* setelah diberi perlakuan menunjukkan angka rerata dan standar deviasi berturut-turut adalah P1 sebesar $44,17 \pm 10,21$, P2 sebesar $43,33 \pm 8,76$ dan P3 sebesar $47,50 \pm 10,37$. Ternyata setelah dianalisis menunjukkan bahwa F hitung lebih kecil daripada F tabel dengan $P > 0,05$ yang berarti tidak menunjukkan perbedaan yang nyata antar perlakuan I, II maupun III.



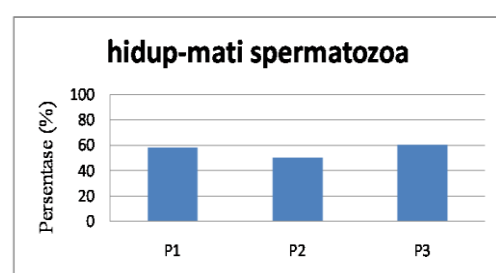
Gambar 1. Diagram batang persentase motilitas progresif spermatozoa *post thawing*

Tidak adanya perbedaan yang nyata diantara tiga pengencer disebabkan masing-masing kandungan yang dimiliki bahan pengencer secara umum sama sesuai dengan yang dibutuhkan spermatozoa agar dapat bertahan hidup. Seperti yang disebutkan oleh Hardijanto dkk. (2010), tentang syarat bahan pengencer harus mengandung sumber nutrisi, bahan yang bersifat *buffer*, bahan anti *cold*

shock, antibiotik, dan krioprotektan yang dapat melindungi spermatozoa selama proses pembekuan dan *thawing*. Hanya saja setiap pengencer memiliki kandungan masing-masing dalam komponennya. Pengencer skim kuning telur dan tris kuning telur sama-sama memiliki kandungan kuning telur. Target utama yang diharapkan dari kuning telur tersebut adalah lesitin (fosfatidil kolin) yang terkandung di dalamnya. Lesitin kuning telur diharapkan akan melindungi lesitin membran plasma sel spermatozoa dari kerusakan selama proses pengolahan semen, terutama saat pendinginan, pembekuan dan *thawing* semen beku. Pengencer AndroMed® tidak menggunakan kuning telur ayam karena dikhawatirkan kuning telur ayam tersebut menjadi media penyebaran berbagai macam kuman penyakit menular. Sebagai pengganti kuning telur pada pengencer AndroMed® digunakan ekstrak kedelai dengan target utama lesitin yang terkandung di dalamnya.

Persentase hidup spermatozoa *post thawing*

Hasil penelitian menunjukkan persentase hidup spermatozoa *post thawing* tidak mengalami perbedaan yang nyata antara masing-masing perlakuan, rerata dan standar deviasinya berturut-turut yaitu P1 $58,17 \pm 14,36$, P2 $50,17 \pm 13,60$ dan P3 $60,33 \pm 9,58$ setelah mendapat perlakuan penambahan pengencer yang berbeda yakni skim kuning telur untuk P1, tris kuning telur untuk P2 dan AndroMed® dengan P3.



Gambar 2. Diagram batang persentase hidup spermatozoa *post thawing*

Sama halnya dengan membran plasma sel lainnya, membran plasma spermatozoa tersusun oleh protein dan fosfolipid, pada umumnya sel akan menggunakan mekanisme tertentu untuk mencegah kerusakan membran yang tidak terkontrol (Mackie *et al.*, 2001). Membran

plasma sel memegang peranan penting karena berfungsi menjaga organel-organel sel secara fisik dan mengatur lalu lintas keluar masuk sel seluruh substrat dan elektrolit yang dibutuhkan dalam proses biokimia sel. Adanya penambahan zat krioprotektan ke dalam medium pengencer semen dapat melindungi kerusakan spermatozoa, baik yang dikarenakan efek larutan maupun pembentukan kristal es ekstraseluler dan intraseluler (Herdis, 2005).

Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil, bahwa persentase motilitas dan persentase hidup spermatozoa *post thawing* dalam pengencer skim kuning telur, tris kuning telur dan AndroMed® di atas nilai yang ditentukan oleh Ditjennak sehingga ketiga pengencer tersebut memenuhi standar pengencer yang telah ditetapkan.

Daftar Pustaka

Arifiantini, Ri. dan TL Yusuf. 2004. Keberhasilan Penggunaan Tiga Pengencer dalam Dua Jenis Kemasan pada Proses Pembekuan Semen Sapi *Frisien holstein*.
//http.www.google.com. [30 mei 2010].

Departemen Pertanian Direktorat Jendral Produksi Peternakan. 2000. Prosedur Tetap (Protap) Produksi dan Distribusi Semen Beku. Jakarta : Direktorat Perbibitan.

Hardijanto., S. Trilas., H. Tatik., S. Suhermi., S. Tri. 2010. Buku Ajar Inseminasi Buatan. Airlangga University Press. Surabaya.

Herdis. 2005. Optimalisasi Inseminasi Buatan melalui Aplikasi Ternologi Laserpunctur pada Domba Garut (*Ovis Aries*). [Disertasi]. Institut Pertanian Bogor.

Mackie, A.R.P., P. S. James, S. Ladha and R. Jones. 2001. Diffusion Barriers in Ram and Boar Sperm Plasma Membranes : Directionality of Lipid Diffusion Across The Posterior Ring. *Biology Reproduction*. Society for The Study of Reproduction, Inc.

Toelihere, M. R., 1993. Inseminasi Buatan pada Ternak Cetakan III. Penerbit Angkasa. Bandung.