

Motilitas Spermatozoa Sapi Brahman dalam Pengencer CEP-D dengan Suplementasi Kuning Telur Ayam (*Gallus sp.*) Strain *Hisex Brown* Selama Penyimpanan Refrigerator

Motility of Spermatozoa Brahman Bull in CEP-D Diluent with Egg Yolk Supplementation of Gallus sp. of Hisex Brown Strain during Refrigerator Storage

Yusuf Andika*, Nur Ducha, Raharjo

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Surabaya

*e-mail: andika.yusuf70@yahoo.co.id

ABSTRAK

Penyimpanan semen dalam bentuk cair membutuhkan pengencer dan krioprotektan berupa kuning telur. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan konsentrasi kuning telur ayam (*Gallus sp.*) strain *hisex brown* yang paling baik dalam pengencer CEP-D untuk mempertahankan motilitas spermatozoa sapi Brahman selama penyimpanan temperatur refrigerator (4-5°C). Desain penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan dan lima kali ulangan. Pengamatan motilitas dengan menggunakan mikroskop perbesaran 200x. Hasil penelitian menunjukkan bahwa suplementasi kuning telur ayam (*Gallus sp.*) strain *hisex brown* dalam pengencer CEP-D berpengaruh nyata terhadap motilitas spermatozoa sapi Brahman selama penyimpanan pada temperatur 4-5°C. Konsentrasi terbaik kuning telur ayam (*Gallus sp.*) strain *hisex brown* pada pengencer CEP-D adalah 20% dan 25% yang mampu mempertahankan persentase motilitas spermatozoa sebesar $39,50 \pm 0,66$ dan $41,50 \pm 1,66\%$ selama 9 hari pada penyimpanan temperatur 4-5°C.

Kata kunci: kuning telur; spermatozoa sapi Brahman; pengencer CEP-D; motilitas

ABSTRACT

Cement storage in liquid form require a diluent and cryoprotectan in the form of egg yolk. The purpose of this research was to obtain the best egg yolk concentration of *Gallus sp.* of *hisex brown* strain in the CEP-D diluent that maintain the motility of the Brahman bull spermatozoa during storage on the temperature of 4-5°C. This research used a complete Randomized Design (RAL) with four treatments and five replications. Observation of spermatozoa motility was done by using microscope with 200x magnification. The results showed that egg yolk supplementation of *Gallus sp.* of *hisex brown* strain in CEP-D diluent give significant effect to motility of spermatozoa Brahman bull during storage on temperature of 4-5°C. The best egg yolk concentration of *Gallus sp.* of *hisex brown* strain in CEP-D diluent was 20% and 25% which was able to maintain the percentage of motility of spermatozoa of 39.50 ± 0.66 and $41.50 \pm 1.66\%$ for 9 days in storage on the temperature of 4-5°C.

Key words : egg yolk; spermatozoa Brahman bull; CEP-D diluent; motility

PENDAHULUAN

Tingkat keberhasilan kegiatan inseminasi buatan sangat bergantung pada kualitas spermatozoa. Salah satu kualitas spermatozoa yang menentukan tingkat keberhasilan inseminasi buatan adalah motilitas spermatozoa. Motilitas spermatozoa merupakan kriteria yang paling banyak digunakan untuk evaluasi semen. Selama penyimpanan pada temperatur rendah, motilitas spermatozoa mengalami penurunan (Solihati dan Kune, 2001). Penurunan motilitas spermatozoa disebabkan adanya radikal bebas. Radikal bebas

dapat mengganggu integritas spermatozoa yang ditandai oleh terbentuknya *Reactive Oxygen Species* (ROS) sehingga membran plasma pada spermatozoa mengalami penurunan fungsi (Sunita, 2003). Membran plasma yang mengalami gangguan fungsi dapat mengakibatkan aktivitas transpor ion yang dibutuhkan untuk metabolisme sel terhambat sehingga sel tidak melakukan metabolisme yang menghasilkan energi untuk pergerakan spermatozoa (A'yun, dkk., 2013). Rusaknya membran plasma sel akan mengganggu seluruh proses biokimia di dalam sel yang pada

akhirnya akan menyebabkan kematian sel itu sendiri (Indra, dkk., 2012). Penurunan motilitas juga disebabkan adanya *cold shock*. Adanya *cold shock* dapat mengakibatkan kerusakan struktur membran spermatozoa yang menyebabkan integritas membran spermatozoa menurun. Penurunan integritas membran dapat mempengaruhi penurunan motilitas spermatozoa (Ducha, dkk., 2012).

Pelindung ekstraseluler di dalam pengencer diperlukan untuk mengurangi adanya gangguan dari radikal bebas. Salah satu zat pelindung ekstraseluler yang digunakan dalam pengencer semen cair untuk melindungi spermatozoa selama penyimpanan pada temperatur rendah adalah kuning telur ayam. Manfaat kuning telur ayam terletak pada lipoprotein dan lesitin yang berfungsi untuk melindungi integritas selubung lipoprotein pada membran plasma spermatozoa (Finny, 2012). Kuning telur umumnya ditambahkan ke dalam pengencer semen sebagai sumber energi dan agens protektif. Manfaat kuning telur terletak pada kemampuannya mempertahankan dan melindungi integritas selubung lipoprotein sel spermatozoa, sifat penyanggah tekanan osmotik sehingga sel spermatozoa lebih toleran terhadap pengencer hipotonik dan hipertonic, dan perlindungan terhadap penurunan temperatur secara drastis dan pencegahan peningkatan aliran kalsium ke dalam sel yang dapat merusak spermatozoa (Gazali, 2002). Komponen spesifik kuning telur juga bertanggung jawab sebagai agens krioprotektif adalah lesitin, fosfolipid, ekstrak lipid, fraksi lipoprotein dan lipoprotein spesifik (Vishwanath and Shannon, 2000).

Teknologi penyimpanan semen cair membutuhkan pengencer agar semen dapat digunakan untuk inseminasi pada sapi betina yang lebih banyak. Verbeckmoes, *et al.*, (2004) telah mengembangkan suatu pengencer semen cair berupa pengencer CEP (*Caudal Epididymal Plasma*) yang kemudian berkembang dan dimodifikasi menjadi CEP-2. Duchá (2012), telah memodifikasi komposisi dan metode pembuatan pengencer CEP-2 menjadi CEP-D yang mampu mempertahankan kualitas spermatozoa sapi Limousin sampai 8 hari dengan motilitas 40% dalam penyimpanan refrigerator. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan konsentrasi kuning telur ayam (*Gallus sp.*) strain *hisex brown* dalam pengencer CEP-D yang mampu mempertahankan motilitas spermatozoa sapi

Brahman pada penyimpanan dengan temperatur 4-5°C.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni dengan desain penelitian RAL (Rancangan Acak Lengkap) dengan empat perlakuan dan lima kali ulangan. Penelitian ini dilakukan selama bulan Juli tahun 2014 di Laboratorium Balai Besar Inseminasi Buatan Singosari, Malang.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini berupa mikroskop elektrik untuk pengamatan motilitas spermatozoa dan refrigerator sebagai tempat penyimpanan spermatozoa. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: bahan untuk pembuatan pengencer CEP-D yang terdiri atas NaCl 15 mmol/l; KCl 7,0 mmol/l; CaCl₂(H₂O)₂ 3,0 mmol/l; MgCl₂(H₂O)₆ 3,0 mmol/l; NaHCO₃ 11,9 mmol/l; NaH₂PO₄ 8,0 mmol/l; KH₂PO₄ 20,0 mmol/l; fruktosa 55 mmol/l; sorbitol 1,0 g/l; BSA 2,0 g/l; Tris 133,7 mmol/l; penisilin 1000 IU; streptomisin 1 g; asam sitrat 9 gram. Bahan untuk suplementasi kuning telur berupa kuning telur ayam petelur (*Gallus sp.*) strain *hisex brown*. Kuning telur ayam petelur yang ditambahkan pada pengencer dengan variasi konsentrasi mulai dari 20%, 25%, dan 30% dari jumlah pengencer CEP-D.

Penelitian ini dilakukan dengan pengamatan motilitas spermatozoa menggunakan mikroskop elektrik perbesaran 200X. Penghitungan motilitas dengan cara membandingkan antara spermatozoa yang bergerak progresif ke depan dan spermatozoa yang bergerak maju mundur atau berputar ditempat (Hafez, 2008). Data dari hasil pengamatan berupa persentase ditransformasi dengan transformasi *arcsin*, kemudian data dianalisis dengan uji normalitas. Hasil uji normalitas, jika menunjukkan data terdistribusi normal, maka data dianalisis dengan ANOVA satu arah yang dilanjutkan dengan uji Duncan untuk mengetahui perbedaan antarperlakuan.

HASIL

Pada penelitian ini diperoleh data rerata persentase motilitas spermatozoa sapi Brahman pada pengencer CEP-D dengan suplementasi kuning telur selama penyimpanan temperatur 4-5°C (Tabel 1). Perbandingan persentase motilitas spermatozoa pada masing-masing perlakuan selama penyimpanan pada temperatur 4-5°C selama 9 hari disajikan pada Gambar 1.

Tabel 1. Rata-rata Motilitas Spermatozoa Sapi Brahman Selama Penyimpanan Refrigerator

Perlakuan	Rerata Motilitas selama Penyimpanan (%) \pm standar deviasi pada hari ke-								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
K	40,00 ^a \pm 3,12	21,00 ^a \pm 7,48	14,00 ^a \pm 5,95	10,00 ^a \pm 3,18	6,90 ^a \pm 3,15	3,50 ^a \pm 2,03	3,20 ^a \pm 2,27	1,20 ^a \pm 0,71	1,20 ^a \pm 0,71
P1	52,50 ^b \pm 1,43	50,00 ^b \pm 1,01	48,00 ^b \pm 0,64	48,00 ^b \pm 1,57	47,00 ^b \pm 1,20	47,50 ^b \pm 1,01	44,5 ^b \pm 0,65	44,50 ^c \pm 0,64	39,50 ^c \pm 0,66
P2	51,00 ^b \pm 1,63	49,50 ^b \pm 0,64	46,50 ^b \pm 1,28	48,00 ^b \pm 1,20	48,50 ^b \pm 1,28	48,00 ^b \pm 0,78	45,5 ^b \pm 0,64	44,50 ^c \pm 0,64	41,50 ^c \pm 1,66
P3	51,00 ^b \pm 0,78	47,00 ^b \pm 1,20	45,00 ^b \pm 0,00	47,00 ^b \pm 0,64	46,50 ^b \pm 0,79	49,00 ^b \pm 1,20	45,00 ^b \pm 1,02	42,50 ^b \pm 1,02	35,50 ^b \pm 0,67

Keterangan:

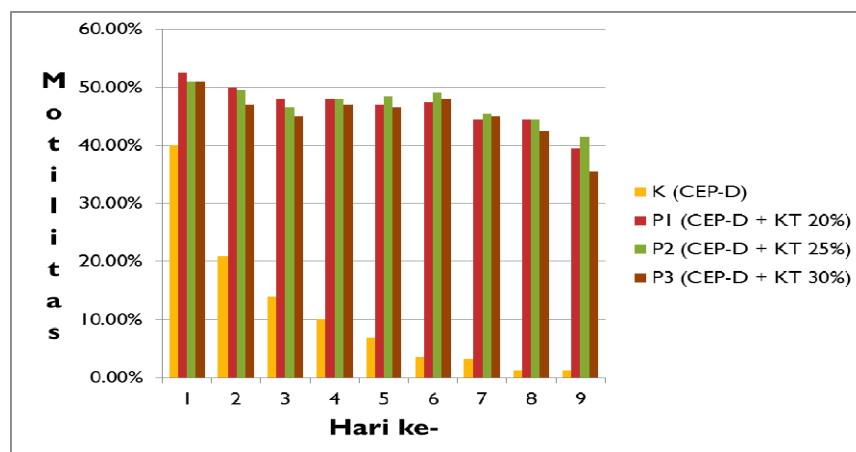
K : Perlakuan kontrol pengencer CEP-D tanpa suplementasi kuning telur

P1 : Perlakuan pengencer CEP-D dengan suplementasi kuning telur 20%

P2 : Perlakuan pengencer CEP-D dengan suplementasi kuning telur 25%

P3 : Perlakuan pengencer CEP-D dengan suplementasi kuning telur 30%

*Notasi yang berbeda (a,b,c) pada kolom yang sama menunjukkan bahwa perlakuan memberikan hasil yang berbeda nyata ($p < 0,05$) terhadap motilitas spermatozoa.

**Gambar 1.** Diagram batang persentase motilitas spermatozoa sapi Brahman selama penyimpanan pada temperatur 4-5°C

Berdasarkan hasil pengamatan rerata persentase motilitas pada hari pertama sampai hari ketiga diketahui bahwa persentase rerata motilitas tertinggi terdapat pada perlakuan P1 dengan nilai 52,50%, 50,00%, dan 48,00%. Pada hari kelima sampai hari kesembilan persentase rerata motilitas tertinggi terdapat pada perlakuan P2 dengan nilai 48,50%, 49,50%, 45,50%, 44,50%, 41,50%. Rerata persentase motilitas yang terendah terdapat pada perlakuan K yang mengalami penurunan dari hari pertama sampai hari kesembilan. Perlakuan P1 dan P3 dapat mempertahankan motilitas spermatozoa sampai turun \pm 40% selama 8 hari, sedangkan pada perlakuan P2 dapat mempertahankan motilitas spermatozoa sampai turun \pm 40% selama 9 hari.

Rerata persentase motilitas spermatozoa sapi Brahman pada hari kesembilan yang tertinggi adalah $41,50 \pm 1,66\%$ pada perlakuan P2 dan

rerata motilitas yang terendah adalah $1,20 \pm 0,71\%$ pada perlakuan K. Dari data rerata motilitas tersebut diketahui persentase motilitas pada pengencer CEP-D tanpa kuning telur lebih rendah daripada pengencer yang mengandung kuning telur.

Hasil analisis data dengan uji normalitas menunjukkan bahwa data terdistribusi normal ($\alpha > 0,05$) dan varian bersifat homogen. Data yang telah terdistribusi normal dilakukan uji ANOVA satu arah menunjukkan bahwa terdapat pengaruh nyata terhadap masing-masing perlakuan (F hitung $>$ F tabel). Berdasarkan hasil uji Duncan ($\alpha = 0,05$) menunjukkan bahwa perlakuan kontrol berbeda nyata dengan perlakuan pengencer CEP-D dengan suplementasi kuning telur pada hari pertama sampai hari kesembilan. Pada hari kedelapan dan hari kesembilan perlakuan P3 berbeda nyata dengan perlakuan pengencer CEP-

D dengan suplementasi kuning telur 20% dan 25%.

PEMBAHASAN

Hasil uji Duncan ($\alpha = 0,05$) menunjukkan persentase motilitas spermatozoa pada perlakuan kontrol yaitu spermatozoa yang disimpan pada pengencer CEP-D tanpa suplementasi kuning telur berbeda sangat nyata dengan ketiga perlakuan lainnya yaitu pengencer CEP-D dengan suplementasi kuning telur 20%, 25%, dan 30%. Kuning telur ayam (*Gallus sp.*) strain *hisex brown* terbukti mempunyai peran penting dalam mempertahankan motilitas spermatozoa, karena kuning telur mengandung lipoprotein dan lesitin yang dapat melapisi membran plasma sel sehingga mampu mempertahankan dan melindungi integritas membran sel spermatozoa serta melindungi spermatozoa dari cekaman dingin (Vishwanath & Shannon, 2000). Peran penting kuning telur juga didukung dalam penelitian Ducha, dkk., (2012), yang menunjukkan konsentrasi kuning telur terbaik adalah konsentrasi 20% yang mampu mempertahankan motilitas ($44,25 \pm 3,92\%$) dan viabilitas ($87,46 \pm 5,40\%$) spermatozoa sapi Limousin setelah penyimpanan pada hari kedelapan pada temperatur 4-5°C.

Persentase motilitas spermatozoa sapi Brahman dari hari pertama hingga hari kesembilan mengalami penurunan. Pada perlakuan kontrol CEP-D tanpa kuning telur pada hari pertama hingga hari kesembilan menunjukkan penurunan yang sangat drastis. Perlakuan CEP-D dengan suplementasi kuning telur 20%, 25%, dan 30% mengalami penurunan motilitas spermatozoa secara perlahan-lahan. Penurunan motilitas spermatozoa pada perlakuan kontrol CEP-D tanpa kuning telur terjadi sangat cepat karena terkait dengan aktivitas fisiologis spermatozoa yang banyak membutuhkan energi. Suatu pengencer tidak cukup hanya menyediakan sumber energi tetapi juga harus menyediakan komponen yang mampu melindungi membran plasma spermatozoa (Ducha, 2012). Kuning telur umumnya ditambahkan ke dalam pengencer semen sebagai sumber energi, agens protektif dan dapat memberikan efek sebagai penyangga terhadap membran plasma spermatozoa (Siswanto, 2006). Perlakuan P3 mengalami penurunan motilitas yang berbeda nyata dengan P1 dan P2 pada hari kedelapan dan kesembilan. Hal ini dikarenakan, pemberian kuning telur pada konsentrasi yang tinggi dapat menurunkan pH dari pengencer. Komponen-komponen yang bersifat asam pada kuning telur dengan

konsentrasi yang terlalu tinggi mengakibatkan penurunan pH pada pengencer sehingga pengencer bersifat asam yang merugikan spermatozoa dan menimbulkan toksik pada spermatozoa (Toliehere, 1993). Konsentrasi kuning telur yang tinggi akan menambah tingkat kekentalan dari pengencer yang dapat menghambat pergerakan spermatozoa (Hafez, 2000). Perlakuan P1 dan P2 dari hari pertama sampai hari kesembilan tidak berbeda nyata dan merupakan perlakuan yang paling baik dikarenakan suplementasi kuning telur 20% dan 25% dalam pengencer CEP-D dapat mencukupi kebutuhan nutrisi dan tidak menimbulkan toksik terhadap spermatozoa sapi Brahman.

SIMPULAN

Penambahan kuning telur pada pengencer CEP-D berpengaruh nyata terhadap motilitas spermatozoa sapi Brahman selama penyimpanan refrigerator (4-5°C). Konsentrasi terbaik dari kuning telur ayam (*Gallus sp.*) strain *hisex brown* adalah konsentrasi 20% dan 25% yang mampu mempertahankan persentase motilitas spermatozoa sebesar $39,50 \pm 0,66$ dan $41,50 \pm 1,66$ % selama 9 hari pada penyimpanan pada temperatur 4-5°C.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada pihak Laboratorium Balai Besar Inseminasi Buatan, Singosari, Malang yang telah memberikan bantuan berupa alat dan tempat untuk penelitian ini sehingga dapat terlaksana.

DAFTAR PUSTAKA

- A'yun AQ, Suyadi, dan Rahmawati A, 2013. Pengaruh Lama Penyimpanan Pada Suhu Ruang Terhadap Kualitas Semen Kambing Boer yang Diencerkan dengan Tris Amino Methane Kuning Telur Setelah Penambahan α -Tocopherol. *Makalah Penelitian. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner Hal. 2-8*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Ducha N, 2012. Suplementasi Kuning Telur Dalam Pengencer CEP-2 Terhadap Kualitas dan Integritas Membran Spermatozoa Sapi Limousin Selama Penyimpanan pada Suhu 4-5°C. *Disertasi* tidak dipublikasikan. Malang : Universitas Brawijaya.
- Ducha N, Susilawati T, Aulanni'am, Wahyuningsih S, 2012. Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Sapi Limousin Selama Penyimpanan Pada Refrigerator Dalam Pengencer CEP-2 dengan Suplementasi Kuning Telur. *Jurnal Kedokteran Hewan Vol. 7: 5-8*.
- Finny PN, 2011. Pengaruh Bahan Pengencer Tris Kuning Telur, Tris Susu, Skim, dan Tris Susu Segar Terhadap Kualitas Semen Sapi Pesisir dan Sapi Peranakan Ongole (PO). *Skripsi* tidak dipublikasikan, Jurusan Produksi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Andalas Padang.

- Gazali MS, Natal T, 2002. Ulasan Kriopreservasi Spermatozoa. *Jurnal Hayati Vol. 9*: 27-32.
- Hafez ESE, 2000. *Reproduction in Farm Animals*. 6th Ed. Philadelphia: Lea and Febiger.
- Hafez ESE, 2008. *Semen Evaluation in Reproduction In Farm Animal 7 the edition..* Maryland, USA: Lippincott Williams and Wilkins.
- Indra T, Arifiantini A, dan Mulyadi Y, 2006. Efektifitas waktu pemaparan gliserol terhadap motilitas spermatozoa pada pembekuan semen domba local menggunakan pengencer tris kuning telur. *Journal Anim. Prod.* 8 (3):168 – 173.
- Siswanto, 2006. Kualitas Semen di dalam pengencer Tris dan Natrium Sitrat dengan berbagai sumber karbohidrat dan level gliserol pada proses kriopreservasi semen Rusa Timor (*Cervus timorensis*). Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor. (*Tesis*) tidak dipublikasikan.
- Solihati N, dan Kune P, 2001. Pengaruh Jenis Pengencer Terhadap Motilitas dan daya Tahan Hidup Spermatozoa Semen Cair Sapi Simental. *Journal. Anim. Prod.* Vol. 10 (1) : 22-29.
- Sunita dan Kostaman T, 2003. Karakteristik Semen Kambing Peranakan Ettawah (PE) dan Boer. *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner Iptek 1*: 381-384.
- Toelihere MR, 1993 . *Inseminasi Buatan pada Ternak*. Bandung: Angkasa.
- Verberckmoes S, De Pauw I, Van Soom A, Dewulf J, and De Kruif A. 2004. Storage of fresh bovine semen in a diluent based on the ionic Composition of cauda epididymal plasma (CEP). *Journal Reproduction in Domestic Animals, Vol. 39*; 1-7.
- Viswanath R and Shannon P, 2000. Storage of bovine semen in liquid frozen. state. *Journal Anim Reprod Sci, Vol. 62*: 23-53.