

## Pengaruh Pengencer Sintetis dan Alami Terhadap Motilitas Spermatozoa Sapi Brahman Selama Penyimpanan dalam Suhu Dingin

### *Effect of Synthetic and Natural Diluents on the Motility of Brahman Cattle Spermatozoa During Storage in the Cool Temperature*

Tasalina Yohana\*, Nur Ducha, Rahardjo

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Negeri Surabaya

\*e-mail: tasalinayohana@gmail.com

#### ABSTRAK

Penyimpanan semen penting dilakukan agar kualitas semen dapat terjaga hingga proses Inseminasi Buatan (IB) pada ternak betina, oleh karena itu dibutuhkan pengencer semen. Media pengencer yang biasa digunakan dalam IB adalah pengencer sintetis, selain menggunakan pengencer sintetis juga dapat menggunakan pengencer alami. Salah satu contoh pengencer alami adalah air kelapa. Tujuan dari penelitian ini adalah mendeskripsikan pengaruh pengencer berbahan dasar alami dan sintetis dalam mempertahankan kualitas semen sapi Brahman selama penyimpanan dalam suhu 4-5°C. Penelitian ini adalah penelitian eksperimen, dengan menggunakan 3 perlakuan yaitu pengencer air kelapa-kuning telur, skim-kuning telur, tris-kuning telur dan 1 kontrol tanpa pengencer. Data yang diperoleh berupa motilitas spermatozoa dianalisis menggunakan ANOVA satu arah dan dilanjutkan dengan uji Duncan. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa motilitas spermatozoa pada pengencer tris-kuning telur berbeda nyata dengan kedua pengencer lainnya yaitu skim-kuning telur dan air kelapa-kuning telur. Motilitas spermatozoa tertinggi pada penyimpanan di dalam pengencer tris kuning telur ( $14,17 \pm 3,03$ ) disusul oleh spermatozoa di dalam pengencer skim-kuning telur ( $3,33 \pm 2,58$ ) dan pengencer air kelapa-kuning telur ( $3,33 \pm 2,58$ ).

**Kata kunci:** pengencer, air kelapa, skim, tris, kuning telur.

#### ABSTRACT

Semen storage is important in order to maintain semen quality until Artificial Insemination (AI) in female cattle, therefore it needs semen diluent. AI usually use synthetic diluent, but natural diluent can be used too. Coconut water is an example of natural diluent. The aim of this research is to describe the difference between natural and synthetic diluents in maintaining semen motility of Brahman cattle during temperature of 4-5°C. This type of research was experimental. There were three treatments, coconut water-yolk, skim-yolk, yolk tris and control (without diluent). Data of motility was analyzed by one-way Anova followed by Duncan's test. The results showed that the motility of spermatozoa in tris-yolk diluent significantly different from the two others, skim-yolk and coconut water-yolk. The highest motility of spermatozoa stored in the tris yolk diluent ( $14.17 \pm 3.03$ ) followed by spermatozoa in the skim-yolk ( $3.33 \pm 2.58$ ) and coconut water-yolk ( $3.33 \pm 2.58$ ).

**Key words:** diluent, coconut water, skim, tris, yolk

---

#### PENDAHULUAN

Salah satu tahapan Inseminasi Buatan yang penting dilakukan adalah penyimpanan semen. Penyimpanan semen penting dilakukan agar kualitas semen dapat terjaga hingga proses IB pada ternak betina, oleh karena itu dibutuhkan pengencer semen (Susilawati, 2011).

Jenis pengencer terdiri dari pengencer organik, anorganik, dan pengencer gabungan antara organik dan anorganik. Pengencer anorganik terdiri dari bahan-bahan kimia seperti larutan NaCl, Na-sitrat, ringer Na-phospat, tris aminomethan, susu skim dan lain-lain. Pengencer organik misalnya air susu, santan kelapa dan air kelapa (Qomariyah dkk., 2001).

Air kelapa dapat menjadi alternatif bahan pengencer yang mudah didapat dan murah dibandingkan dengan pengencer tris kuning telur atau skim kuning telur yang relatif mahal. Pengencer air kelapa-kuning telur yang digunakan terdiri dari air kelapa gading, penisilin, streptomisin dan kuning telur (Suteky dkk., 2007). Selain pengencer air kelapa-kuning telur terdapat bahan pengencer lain yang sering digunakan dalam penelitian yaitu tris kuning telur. Pengencer tris kuning telur mengandung beberapa komponen yaitu tris aminomethan, asam sitrat, laktosa, raffinosa, penisilin, streptomisin, kuning telur dan air suling (Mardiyah, 2001). Pengencer semen berikutnya

adalah skim kuning telur. Pengencer skim kuning telur mengandung komponen yaitu susu skim, glukosa, penisilin, streptomisin, kuning telur dan air distilat (Widjaya, 2011).

Ketiga bahan pengencer tersebut tidak mampu melindungi spermatozoa dari temperatur rendah sehingga perlu ditambahkan bahan-bahan lain yang dapat mengoptimalkan kemampuannya. Bahan yang bisa ditambahkan antara lain kuning telur. Kuning telur mengandung lipoprotein dan lesitin yang dapat melapisi membran plasma sel. Kandungan tersebut mampu mempertahankan dan melindungi integritas selubung lipoprotein sel spermatozoa dan melindungi dari cekaman dingin (Mumu, 2009).

Penelitian mengenai perbandingan pengencer terhadap kualitas semen sapi Simmental yang dilakukan Solihati dan Kune (2009) diketahui bahwa pengencer sitrat kuning telur lebih mampu mempertahankan daya hidup spermatozoa sapi Simmental hingga hari kelima penyimpanan dan terendah diperoleh dari bahan pengencer air kelapa muda kuning telur yakni 3 hari setelah pengenceran. Semua semen cair dalam tiap bahan pengencer selama penelitian disimpan pada temperatur penyimpanan 3 - 5°C.

Bahan pengencer yang baik harus mempunyai kemampuan yang baik dalam memperkecil tingkat penurunan motilitas spermatozoa sehingga memperpanjang lama waktu penyimpanan setelah pengenceran. Tidak semua bahan pengencer memperlihatkan kemampuan yang sama dalam mempertahankan motilitas spermatozoa dalam suhu dingin, oleh karena itu dilakukan penelitian untuk mendeskripsikan kemampuan pengencer dalam mempertahankan motilitas spermatozoa. Tujuan dari penelitian ini adalah mendeskripsikan perbandingan pengencer berbahan dasar alam dan sintesis dalam mempertahankan motilitas semen sapi Brahman.

#### BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli 2014. Alat yang dibutuhkan adalah botol kaca, *waterbath*, mikroskop elektrik, *spectrofotometer*, *stick glass*, *magnetic stirrer*, timbangan elektrik, pinset, cawan petri, tabung sentrifus, *object glass*, *cover glass*, mikropipet ukuran 100 µ dan ukuran 1000 µ, erlenmeyer, *beaker glass*, *refrigerator*, kamera digital Canon Powershot A495, dan alat tulis.

Bahan yang dibutuhkan untuk membuat pengencer kelapa gading dan kuning telur adalah air kelapa gading muda sebanyak 100 ml, *penisilin*

dan *streptomycin* 0,1 gram per 100 ml, semen segar dari Sapi Brahman, kuning telur dari peternak di Desa Toyomarto - Singosari, kertas saring, *milipore membrane* 0,22 µm, *sputit* 5 ml, kapas, dan alkohol. Bahan yang dibutuhkan untuk tris kuning telur per 1000 ml adalah *tris amino methane* 17,65 g; asam sitrat 9,65 g; laktosa 15,55 g; kuning telur 220 ml; raffinosa 27,95 g; *streptomycin* 1.000.000 g/L; akuades 880 ml dan penisilin 1.000.000 U/L. Bahan yang dibutuhkan untuk skim kuning telur yaitu susu skim 10 %, glukosa 1 %, penisilin 100.000 IU / 100 ml, streptomisin 0,1 g/ 100 ml, kuning telur 5 % dan akuades steril 80 %. Untuk pengamatan spermatozoa dibutuhkan NaCl fisiologis, eosin dan negrosin, alkohol 70%, kertas Bromtimol Biru dan *aluminium foil*.

Metode pembuatan pengencer air kelapa-kuning telur adalah air kelapa gading muda sebanyak 100 ml dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml kemudian penisilin 0,1 g dan streptomisin 0,1 g dimasukkan ke dalam erlenmeyer tersebut dan disterilisasi dengan menggunakan *milipore membrane* dengan ukuran 0,22 µm di *Laminar Air Flow*. Setelah itu suplementasi kuning telur pada pengencer air kelapa gading.

Tahapan pembuatan pengencer tris-kuning telur yaitu bahan dimasukkan di dalam erlenmeyer kemudian akuades steril ditambahkan hingga volume 880 ml kemudian kuning telur sebanyak 220 ml ditambahkan ke larutan dan selanjutnya ditambahkan antibiotik. Larutan tersebut dimasukkan ke dalam *refrigerator* suhu 4-5°C kemudian sedimen dan supernatan dipisahkan setelah 3 hari.

Bahan yang dibutuhkan untuk skim kuning telur dicampurkan kemudian dilarutkan dan dipanaskan selama 10 menit dengan suhu 80°C. Kuning telur dicampurkan sebanyak 5 %. Larutan dihomogenkan dengan menggunakan *magnetic stirrer* selama kurang lebih 30 menit kemudian dimasukkan ke dalam *refrigerator* suhu 4-5°C. Hasil homogenisasi kemudian disaring dengan kertas saring dan dimasukkan ke dalam gelas ukur volume 100 ml lalu ditutup dengan *aluminium foil* dan dimasukkan dalam *refrigerator* suhu 4-5°C, dibiarkan selama 3 hari untuk memisahkan endapan dan supernatan. Proses pengenceran dihitung dengan menggunakan rumus pengenceran :

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

Keterangan :

$V_1$  = volume semen segar

$V_2$  = volume campuran semen segar + pengencer yang diinginkan (ditentukan terlebih dahulu 5 ml).

$M_1$  = konsentrasi spermatozoa dari semen segar, hasil perhitungan petugas BBIB

$M_2$  = konsentrasi spermatozoa dalam pengencer yang telah ditentukan.

Volume pengencer ( $V_p$ ) selanjutnya dapat dihitung dengan rumus :

$$V_p = V_2 - V_1$$

Setelah dilakukan pengenceran kemudian disimpan dalam *refrigerator* suhu 4-5°C dengan menggunakan metode *water jacket*. Pengamatan motilitas spermatozoa dilakukan dibawah mikroskop perbesaran 100x.

## HASIL

Hasil rerata persentase motilitas dan Uji Duncan dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Data Rerata Persentase Motilitas Spermatozoa Sapi Brahman Selama Penyimpanan pada Suhu 4-5°C

Perlakuan	Rerata Motilitas selama Penyimpanan (%)						
	pada hari ke-						
	1	2	3	4	5	6	7
P1	41,20±	41,00±	40,42±	32,50±	21,25±	7,08±	3,33±
	1,37 <sup>b</sup>	1,37 <sup>b</sup>	1,88 <sup>b</sup>	1,50 <sup>b</sup>	2,09 <sup>c</sup>	1,88 <sup>c</sup>	2,58 <sup>b</sup>
P2	41,60±	41,67±	42,08±	33,33±	17,50±	3,33±	3,33±
	2,04 <sup>b</sup>	2,59 <sup>b</sup>	1,02 <sup>b</sup>	1,29 <sup>b</sup>	2,74 <sup>b</sup>	2,58 <sup>b</sup>	2,58 <sup>b</sup>
P3	44,10±	42,08±	41,67±	39,58±	27,92±	21,58±	14,17±
	2,04 <sup>b</sup>	1,02 <sup>b</sup>	2,58 <sup>b</sup>	1,88 <sup>c</sup>	2,92 <sup>d</sup>	1,88 <sup>d</sup>	3,03 <sup>c</sup>
K	0±	0±	0±	0±	0±	0±	0±
	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>

Keterangan: Notasi (a, b, c,d) yang berbeda pada kolom yang sama yang sama menunjukkan bahwa perlakuan tersebut berbeda nyata berdasarkan uji Duncan dengan taraf kepercayaan 5%. P1 (perlakuan air kelapa-kuning telur), P2 (perlakuan skim-kuning telur), P3 (perlakuan tris-kuning telur) dan K (tanpa pengencer).

## PEMBAHASAN

Salah satu aspek penilaian kualitas spermatozoa secara mikroskopis adalah motilitas. Pada hari ke-1 hingga hari ke-3 berdasarkan uji statistik data motilitas yang diperoleh tidak berbeda nyata. Motilitas yang sama disebabkan karena nutrisi yang dapat digunakan sebagai sumber energi pada pengencer masih tersedia sehingga dapat digunakan spermatozoa untuk melakukan pergerakan (Ridwan, 2008). Penambahan kuning telur juga berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa dalam ketiga pengencer. Hal ini sesuai dengan pernyataan Gunawan dkk. (2004) karena di dalam kuning telur terdapat lipoprotein dan lesitin yang dapat mengurangi efek *cold shock* bagi spermatozoa, sehingga mengurangi kerusakan pada saat pengenceran dan pendinginan.

Pada hari ke-4 motilitas spermatozoa di dalam pengencer air kelapa-kuning telur tidak berbeda nyata dengan pengencer skim-kuning telur sedangkan motilitas spermatozoa di dalam kedua pengencer tersebut berbeda nyata dengan tris-kuning telur dalam mempengaruhi motilitas spermatozoa. Hal ini sesuai dengan penelitian Parera dkk. (2009) yang menyatakan bahwa pengencer tris kuning telur menghasilkan

motilitas lebih baik dibandingkan dengan sari wortel. Hal ini disebabkan oleh unsur-unsur yang terkandung di dalam pengencer tris lebih mampu bertahan dari proses kerusakan selama preservasi, sehingga kemampuan dalam mempreservasi spermatozoa lebih baik. Zat-zat nutrisi yang masih baik terutama karbohidrat dapat dimetabolisir menjadi energi berupa *adenosine triphosphate* (ATP).

Hari kelima dan keenam pengencer air kelapa-kuning telur berbeda nyata dengan pengencer skim-kuning telur berbeda nyata dengan tris-kuning telur dalam mempengaruhi motilitas spermatozoa.

Pada hari ketujuh terdapat perbedaan antara ketiga pengencer dalam mempengaruhi motilitas spermatozoa. Pengencer air kelapa kuning telur dan skim kuning telur homogen dalam mempertahankan motilitas spermatozoa sedangkan tris-kuning telur berbeda nyata dengan kedua pengencer tersebut. Perlakuan air kelapa-kuning telur dan skim kuning telur tidak berbeda nyata dalam mempertahankan motilitas pada hari ketujuh.

Parera dkk. (2009) menyatakan bahwa penurunan persentase motilitas progresif diduga akibat banyaknya spermatozoa yang mati dan

menjadi toksik terhadap spermatozoa lain yang masih hidup, sehingga secara umum kualitasnya menjadi menurun.

Pada pengencer air kelapa motilitas menurun pada hari terakhir karena gangguan pada metabolisme fruktosa. Metabolisme spermatozoa dalam keadaan anaerob menghasilkan asam laktat yang mengakibatkan racun bagi sperma. Pada kondisi lingkungan yang asam, daya gerak spermatozoa akan menurun dan dapat menyebabkan kematian sperma (Varasofiari dkk., 2013).

Rendahnya persentase motilitas pada pengencer skim kemungkinan disebabkan kandungan laktosa tinggi yang dapat mempercepat metabolisme spermatozoa selanjutnya terjadi penumpukan asam laktat yang akan menjadi racun bagi spermatozoa (Solihati dkk., 2006). Pada perlakuan pengencer skim kuning telur penelitian Solihati dan Kune (2009) mempunyai motilitas yang lebih rendah dibandingkan tris kuning telur karena disebabkan oleh susu skim yang berfungsi sebagai buffer tidak dapat mempertahankan perubahan pH akibat terbentuknya asam laktat sisa metabolisme yang menghasilkan energi.

Motilitas pengencer tris kuning telur tertinggi dibandingkan dengan kedua pengencer yang lain karena mengandung nutrisi yang lebih lengkap dan konsentrasi yang cukup dalam melindungi spermatozoa selama preservasi. Tris (*hydroxymethyl*) aminomethan berfungsi sebagai *buffer* bersifat basa yang mampu sebagai *buffer* pH larutan agar tetap stabil (Hafez, 2000). Asam sitrat berfungsi sebagai *buffer* pengikat lemak pada kuning telur dan mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit (Susilawati, 2011). Laktosa sebagai salah satu karbohidrat golongan disakarida yang dapat dimetabolisir oleh spermatozoa melalui glikolisis dan /atau siklus Krebs untuk menghasilkan energi berupa adenosin trifosfat (ATP). Adenosin trifosfat dimanfaatkan oleh spermatozoa sebagai sumber energi dalam proses pergerakan sehingga dapat tetap motil dan sekaligus untuk mempertahankan daya hidupnya (Rizal, 2009).

### SIMPULAN

Simpulan yang dapat diambil yaitu motilitas spermatozoa yang disimpan dalam pengencer tris-kuning telur berbeda nyata dengan kedua pengencer lainnya yaitu skim-kuning telur dan air kelapa-kuning telur. Motilitas spermatozoa tertinggi disimpan di dalam pengencer tris kuning telur ( $14,17 \pm 3,03$ ) disusul oleh spermatozoa di dalam pengencer skim-kuning telur ( $3,33 \pm 2,58$ )

dan pengencer air kelapa-kuning telur ( $3,33 \pm 2,58$ ).

### UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Kepala Laboratorium Balai Besar Inseminasi Buatan Singosari-Malang beserta seluruh staf dan Kepala Laboratorium Biologi Universitas Negeri Malang beserta staf yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.

### DAFTAR PUSTAKA

- Gunawan M, Afiati F, Kahn EM, Said S, Taiwa B. 2004. Pengaruh Media Pengencer Terhadap Kualitas Spermatozoa Beku Sapi PO. *Makalah*. Disampaikan pada Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner, Badan Penelitian dan Pengembangan Departemen Pertanian, 2004.
- Hafez ESE, 2000. *Reproduction in Farm Animals* 7<sup>th</sup> Edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins
- Mardiyah E, 2001. Teknik Pengenceran pada Pembuatan Chilling Semen Sapi. *Makalah*. Disampaikan pada Temu Teknis Non Peneliti, Badan Penelitian dan Pengembangan Departemen Pertanian, 2001.
- Mumu MI, 2009. Viabilitas Semen Sapi Simental yang Dibekukan Menggunakan Krioprotektan Gliserol. *Journal Agroland*, 16(2):172-179.
- Parera F, Prihatiny Z, dan Rizal M, 2009. Pemanfaatan Sari Wortel sebagai Pengencer Alternatif Spermatozoa Epididimis Sapi Bali. *J.Indonesia Tropic Animal Agricultural*. 1(34):50-56.
- Qomariyah S, Mihardja, dan Idi R, 2001. Pengaruh Kombinasi Kuning Telur Dengan Air Kelapa Terhadap Daya Tahan Hidup dan Abnormalitas Spermatozoa Domba Priangan Pada Penyimpanan Suhu Refrigerator. *Makalah*. Disampaikan pada Seminar Nasional Teknologi dan Veteriner, Badan Penelitian dan Pengembangan Departemen Pertanian, 2001.
- Ridwan, 2008. Pengaruh Jenis Pengencer Semen Terhadap Motilitas Abnormalitas dan Daya Tahan Hidup Spermatozoa Ayam Buras Pada Penyimpanan Suhu 5°C. *Jurnal Agroland*, 15(3):229:235.
- Rizal M, 2009. Daya Hidup Spermatozoa Epididimis Sapi Bali yang Dipreservasi pada Suhu 3-5<sup>o</sup> C dalam Pengencer Tris dengan Konsentrasi Laktosa yang Berbeda. *JITV*. 14(2):142-149
- Solihati N, Idi R, Setiawan R, dan Asmara IY, 2006. Pengaruh Lama Penyimpanan Semen Cair Ayam Buras pada Suhu 5°C terhadap Periode Fertil dan Fertilitas Sperma. *Jurnal Ilmu Ternak*. 6(1):7-11.
- Solihati N dan Kune P. 2009. Pengaruh Jenis Pengencer Terhadap Motilitas dan Daya Tahan Hidup Spermatozoa Semen Cair Sapi Simmental. *Makalah*. Disampaikan pada Seminar Nasional

- Teknologi Peternakan dan Veteriner, Universitas Padjajaran, 2008.
- Susilawati T. 2011. *Spermatology*. Malang : Universitas Brawijaya Press.
- Suteky T, Kadarsih S, dan Fisniarsih Y, 2007. Pengaruh Pengencer Kuning Telur dengan Air Kelapa dan Lama Penyimpanan terhadap Kualitas Semen Kambing Nubian *Jurnal Sains Peternakan Indonesia*. 2(2):65-71.
- Varasofiari LN, Setiatin ET, dan Sutopo, 2013. Evaluasi Semen Segar Sapi Jawa Brebes Berdasarkan Lama Waktu Penyimpanan. *Animal Agriculture Journal*. 2(1):201-208.
- Widjaya N, 2011. Pengaruh Pemberian Susu Skim dengan Pengencer Tris Kuning Telur terhadap Daya Tahan Hidup Spermatozoa Sapi pada Suhu Penyimpanan 5°C. *Sains Peternakan*, 9(2):72-78.