

Viabilitas Spermatozoa Sapi Brahman dalam Pengencer CEP-D dengan Perbedaan Kuning Telur selama Penyimpanan di Refrigerator

The Viability of Spermatozoa of Brahman Cattle in CEP-D Extenders Combined with Different Egg Yolks during Refrigerator Storage

Moh. Alfathollah*, Tjandrakirana, Nur Ducha

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

*e-mail: fathullah.enje@yahoo.com

ABSTRAK

Kuning telur mengandung fosfolipid, LDL dan kolesterol yang berfungsi sebagai kryoprotektan spermatozoa pada suhu 5°C dalam refrigerator. Tujuan penelitian ini untuk mendapatkan pengencer spermatozoa sapi Brahman yang terbaik dari bahan dasar pengencer CEP-D dengan penambahan kuning telur dari telur puyuh, ayam kampung, ayam broiler dan itik. Penelitian ini merupakan eksperimental murni dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL), data dianalisis dengan Anova dan dilanjutkan dengan uji Duncan. Hasil dari penelitian ini menunjukkan rata-rata viabilitas spermatozoa sapi Brahman yang dinyatakan dalam % pada hari ke-8, perlakuan CEP-D tanpa kuning telur (K: 0±0,00), CEP-D kuning telur puyuh (P1: 52,94±0,48), ayam kampung (P2: 47,78±0,65), ayam broiler (P3: 50,31±1,29), itik (P4: 52,17±1,65). Berdasarkan data penelitian disimpulkan bahwa kuning telur puyuh, ayam kampung, ayam broiler dan itik dapat dijadikan kombinasi CEP-D untuk menyimpan spermatozoa sapi Brahman dalam refrigerator dan kualitas spermatozoa sapi Brahman yang lebih baik disimpan dalam CEP-D kuning telur puyuh, ayam broiler dan kuning telur Itik.

Kata kunci: motilitas dan viabilitas spermatozoa, pengencer CEP-D dan kuning telur (puyuh, ayam kampung, ayam broiler dan itik)

ABSTRACT

Egg yolk contains phospholipid, LDL and cholesterol which function as cryoprotectant of spermatozoa in 5°C in refrigerator. This research aimed to obtain the best extender of CEP-D with quail egg yolk, chicken, broiler chicken and duck. This was a true experimental research with Completely Randomized Design (CRD), the data were analyzed by Anova and followed by Duncan's test. The results of this study expressed that motility averages of Brahman cattle measurably with % on eighth days were CEP-D without egg yolk (K: 0±0.00), CEP-D with from Quail (P1: 52.94±0.48), Chicken (P2: 47.78±0.65), Broiler chicken (P3: 50.31±1.29), Duck egg yolks (P4: 52.17±1.65). Based on research data that quail egg yolks, chickens, broiler chickens and ducks can be a combination of CEP-D to store spermatozoa and sperm quality Brahman cattle better stored in CEP-D with egg yolk from quail, broiler chickens and ducks.

Key words: motility and viability of spermatozoa, CEP-D extender and yolk eggs (quail, chicken, broiler chickens and ducks)

PENDAHULUAN

Permasalahan dalam penanganan semen beku yang sering dijumpai di lapangan adalah keterbatasan kontainer, kesulitan dan keterlambatan dalam memperoleh nitrogen cair serta mahalnya nitrogen cair.

Teknologi semen cair dapat dijadikan alternatif dari semen beku, kelebihan semen cair yaitu pembuatannya yang mudah, bahan pengencer murah, motilitas spermatozoa lebih tinggi, dapat disimpan dalam refrigerator dengan suhu 5°C dan penyimpanan di refrigerator memungkinkan masyarakat umum dapat

menggunakannya, namun kekurangan dari teknologi ini adalah lama penyimpanan hanya 10 hari (Zul, 2007).

CEP-D adalah salah satu bahan pengencer yang dikembangkan saat ini, komposisi ion anorganik dari CEP-D telah dikalkulasi untuk disesuaikan dengan konsentrasi ion dalam cairan kauda epididimis sapi (Ducha dkk, 2012). Penambahan pada pengencer CEP-D diperlukan karena kuning telur (*yolk egg*) mengandung lipoprotein dan fosfolipid yang melindungi integritas membran spermatozoa dari *cold shock* pada suhu penyimpanan 5°C.

LDL yang ada dalam kuning telur dapat berinteraksi dengan protein BSP (*Bone sialoprotein*), sehingga dapat mengurangi pemindahan kolesterol maupun fosfolipid dari membran spermatozoa (Manjunath *et al.*, 2007).

Berdasarkan penelitian Dwiloka (2003) kuning telur unggas di antaranya kuning telur puyuh, ayam kampung, ayam broiler dan itik mengandung kolesterol yang berbeda.

Atas dasar perbedaan kadar LDL, fosfolipid dan kolesterol pada masing-masing kuning telur puyuh, ayam kampung, ayam broiler dan itik perlu diadakan penelitian tentang pengaruh pemberian berbagai kuning telur tersebut terhadap viabilitas spermatozoa dalam pengencer CEP-D.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Hewan Universitas Negeri Malang, sedangkan pengambilan semen segar sapi Brahman dan pengenceran dilakukan di Balai Besar Inseminasi Buatan Singosari. Pembuatan pengencer CEP-D berdasarkan atas penelitian (Ducha dkk, 2012), yaitu membuat larutan aliquot masing-masing dalam gelas erlenmeyer 250 ml dari bahan NaCl, KCl, CaCl₂, MgCl₂(H₂O)₆, NaHCO₃, NaH₂PO₄, KH₂PO₄, fruktosa, sorbitol, BSA, penicillin, Tris, streptomycin dan asam sitrat. Semua bahan-bahan diatas campur dan disterilisasi dengan membran milipore ukuran pori 0,22 µm, sterilisasi dilakukan di *Laminar Air Flow* (LAF). CEP-D kemudian di suplementasi dengan kuning telur 20% dan diendapkan selama tiga hari di dalam refrigerator dengan suhu 5°C. Bagian yang diambil dengan *disposable syringe* ukuran 5 ml atau 10 ml adalah bagian yang tidak mengendap, merupakan larutan homogen berwarna kuning.

Penelitian dilakukan untuk menguji perbedaan viabilitas spermatozoa sapi Brahman yang disimpan dalam pengencer CEP-D tanpa kuning telur, CEP-D dengan kuning telur puyuh, ayam kampung, ayam broiler dan itik. Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni, dengan desain penelitian RAL (Rancangan Acak Lengkap).

Semen segar yang diperoleh segera dilakukan pengenceran. Pengenceran dilakukan di *waterbath* dengan suhu 37°C. Teknik pengenceran menggunakan rumus $V_1M_1 = V_2M_2$. Keterangan : V1: volume semen segar, V2: volume semen segar dan CEP-D yang diinginkan (5 ml), M1: konsentrasi semen segar hasil dari perhitungan *Accucel Sprektofotometer*, M2: konsentrasi spermatozoa dalam pengencer yaitu

ditentukan $25 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ sesuai standart IB. Kemudian volume pengencer (vp) dihitung dengan rumus: $V_p = V_2 - V_1$.

Parameter yang diamati adalah viabilitas spermatozoa selama penyimpanan dalam refrigerator yang dinyatakan dengan persen. Pengamatan viabilitas menggunakan pewarnaan eosin-negrosin.

Data yang berupa persentase ditransformasi ke Arcsine terlebih dahulu. Hasil analisis dilanjutkan dengan uji normalitas, selanjutnya dilakukan uji parametrik metode *Analysis of Varian* (ANOVA) untuk mengetahui pengaruh masing-masing perlakuan. Kemudian untuk mengetahui perbedaan masing-masing perlakuan dilanjutkan uji Duncan's.

HASIL

Sebelum dilakukan pengenceran dilakukan evaluasi semen segar terlebih dahulu. Hasil pengamatan semen segar sebagaimana Tabel 1.

Tabel 1. Hasil evaluasi kualitas semen segar sapi brahman

Karakteristik	Penilaian
Makroskopis	
Volume	5,5 ml
Warna	Putih susu
Konsistensi	Kental
pH	6.7
Mikroskopis	
Konsentrasi	1654×10^5
Motilitas massa	2+
Motilitas individu	55%
Viabilitas	88%

Viabilitas spermatozoa adalah daya hidup spermatozoa, spermatozoa hidup dan mati dapat diamati dengan menggunakan pewarna eosin-negrosin, spermatozoa yang mati akan berwarna merah karena menyerap warna eosin, membran sel spermatozoa tidak permeabel terhadap pewarna eosin, sedangkan negrosin memberi latar berwarna biru sampai hitam (Toelihere, 1993).

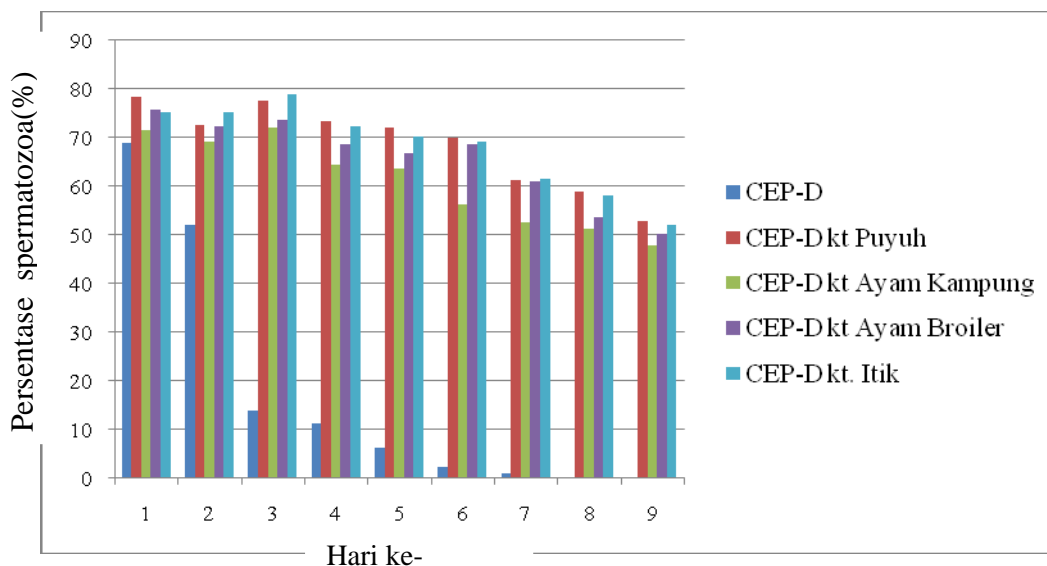
Pengamatan viabilitas pada hari ke-7 samapi hari ke-8 terlihat ada 3 kelompok perlakuan yang berbeda signifikan. yaitu kelompok kontrol(CEP-D), kelompok kedua yaitu P2(CEP-D dengan kuning telur ayam kampung), kelompok ke tiga yaitu P3(CEP-D kuning telur ayam broiler), P1(CEP-D kuning telur puyuh) dan P4 (CEP-D kuning telur itik). Pengamatan pada hari ke-5 sudah terjadi perbedaan disebabkan kurang cermatan dalam menghomogenkan sampel saat spermatozoa diambil pengencer, sehingga data yang diamati jadi bias, karena pada

hari ke-1 dan ke-6 masing-masing perlakuan masih belum menunjukkan perbedaan, terjadi

perbedaan setelah hari ke-7 dan ke-8 (Gambar 2).



Gambar 1. Spermatozoa yang sudah diwarnai dengan pewarna eosin-negrosin. Tanda panah menunjukkan spermatozoa yang mati.



Gambar 2. Persentase viabilitas spermatozoa sapi Brahman setiap hari

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, spermatozoa sapi Brahman yang disimpan dalam pengencer CEP-D tanpa kuning telur mengalami penurunan viabilitas secara drastis sejak hari pertama penyimpanan di refrigerator. Perubahan status *in vivo* ke *in vitro* dapat menurunkan viabilitas spermatozoa, ada beberapa faktor yang menyebabkan penurunan kualitas spermatozoa yaitu perubahan suhu yang cepat (Parks dan Graham, 1992 dalam Rizal 2009; Rizal dan Herdis, 2008) dan perubahan kimia dalam lingkungan spermatozoa (White, 2006).

Mekanisme perlindungan kolesterol dapat dijelaskan dengan berbagai hal, diantaranya kolesterol berfungsi untuk melindungi perubahan suhu dan bahaya dari ROS dengan mekanisme menggantikan struktur lipid eksogen dengan mengekstrak kolesterol membran plasma sel sehingga mengubah nisbah kolesterol terhadap fosfolipid pada membran plasma sel (Rizal dan Herdis, 2008).

Mekanisme perlindungan spermatozoa dalam pengencer yang disuplementasi kuning telur yaitu cairan semen yang mengandung protein BSP (*Bone Sialoprotein*) berikatan dengan membran phospholipid spermatozoa saat ejakulasi, protein

BSP mempengaruhi perubahan membran plasma dengan menstimulasi kolesterol dan fosfolipid, sehingga menyebabkan hilangnya lipid dan kolesterol. Pembongkaran BSP protein di dalam membran spermatozoa dapat menyebabkan kerusakan membran spermatozoa, namun dengan adanya LDL yang berada di kuning telur mampu berikatan dengan protein BSP sehingga tidak terjadi pembongkaran protein BSP (Amirat, 2007; Manjunath *et al.*, 2007).

Kerusakan pada membran spermatozoa akibat ROS dan *cold shock* dapat mengganggu aktifitas metabolisme seluler, sehingga kebutuhan dan transfer zat-zat elektrolit terganggu yang nantinya akan berujung pada kematian spermatozoa (Rizal, 2009).

Perlakuan CEP-D yang disuplementasi berbagai kuning telur unggas lebih baik dari pada CEP-D tanpa kuning telur, hal ini mengindikasikan terjadi perbedaan status fisiologis yang signifikan, meskipun CEP-D di modifikasi seperti halnya epididimis sapi, namun demikian membutuhkan makromolekul seperti kuning telur untuk melindungi spermatozoa selama proses penyimpanan di refrigerator. Kuning telur mengandung *Low-density lipoprotein* (LDL), khususnya fosfolipid yang telah diidentifikasi sebagai komponen efektif dalam melindungi spermatozoa terhadap pengaruh pendinginan yang cepat (Rizal dan Herdis 2008).

Pengamatan viabilitas spermatozoa sapi Brahman antara perlakuan CEP kuning telur puyuh (P1), ayam kampung (P2), ayam broiler (P3) dan itik (P4) tidak berbeda nyata pada hari pertama sampai hari ke lima. Hal ini disebabkan nisbah kolesterol, fosfolipid dan LDL masih dalam keadaan berimbang. Sedangkan perbedaan persentase viabilitas pada masing-masing perlakuan CEP-D dengan berbagai kuning telur terlihat berbeda pada hari ke tujuh, yaitu perlakuan P1, P3, dan P4 menghasilkan hasil yang lebih baik di antara P2. Perlakuan P1, P3, P4 tidak berbeda nyata dan mengalami besar penurunan rata-rata persentase viabilitas hampir sama.

Diduga kuning telur ayam kampung (P2) dalam penelitian ini mengandung kolesterol yang rendah, karena jenis pakan yang diberikan ala kadarnya, tidak mempertimbangkan aspek nutrisinya, beda halnya dengan puyuh, ayam broiler dan itik yang pakanya terpenuhi untuk kebutuhan produksi telur. Rahmat (2011) menjelaskan semakin banyak kolesterol yang dimakan oleh ternak maka akan berpengaruh pada peningkatan kolesterol dan LDL dalam kuning telur. deposisi kolesterol dalam telur

maupun daging banyak dipengaruhi oleh berbagai faktor antara lain faktor genetik, nutrient dan obat-obatan bahkan dinyatakan (Hargi, 1988 dalam Rahmat, 2011) bahwa kolesterol dalam kuning telur dapat berubah-ubah yang mencapai 25% oleh kolesterol dari pakan dan lemak yang dikonsumsi.

SIMPULAN

Kombinasi pengencer CEP-D untuk menjaga viabilitas spermatozoa sapi Brahman selama penyimpanan di refrigerator dapat menggunakan penambahan kuning telur puyuh, ayam kampung, ayam broiler dan itik. Namun viabilitas spermatozoa sapi Brahman lebih baik disimpan dalam CEP-D dengan kuning telur puyuh, ayam broiler dan Itik.

DAFTAR PUSTAKA

- Amirat, LB, Daniel T, Marc A, 2007. *Use of Egg Compounds for Cryoprotection of Spermatozoa*. Chapter 30. Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes, Nantes cedex 03, France
- Ducha, N, Susilawati T, Aulanniam, Sri W, Mulyoto P. 2012. Ultrastructure and Fertilizing Ability of Limousin Bull Sperm after Storage in Cep-2 Extender with and Without Egg Yolk. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 15: 979-985.
- Dwiloka B. 2003. Efek kolesterolemik Berbagai Telur. *Journal Teknologi Produksi Ternak* No 27 (2):58-65. Semarang: Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro
- Manjunath P, Bergeron A, Lefebvre J, Fan J. 2007. *Seminal Plasma Proteins: Functions and Interaction With Protective Agents During Semen Preservation*. Canada: Departments of Medicine, University of Montreal, Quebec
- Rahmat D. 2011. Pendugaan Kadar Kolesterol Daging Dan Telur Berdasarkan Kadar Kolesterol Darah Pada Puyuh Jepang. *Journal Peternakan* vol 11. Nomor 1, 35-38. Bandung: Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran
- Rizal M, Herdis. 2008. *Inseminasi Buatan pada Domba*. Jakarta: PT. Rineka Cipta
- Rizal M. 2009. Daya Hidup Spermatozoa Epididimis Sapi Bali yang Dipreservasi pada Suhu 3-5°C dalam Pengencer Tris dengan Konsentrasi Laktosa yang Berbeda. *Journal JITV* vol. 14(2): 142-149. Ambon: Universitas Pattimura
- Toelihere MR . 1993. *Inseminasi Buatan pada Ternak*. Cetakan 3. Bandung: Penerbit Angkasa.
- White IG. 2006. *Lipids and Calcium Uptake of Sperm in Relation to Cold Shock and Preservation*. Department of Veterinary Physiology. Australia: University of Sydney.
- Zul E. 2007. *Manajemen Perkawinan Sapi Potong*. Panduan Teknologi Mendukung Program PSDS.