

Kualitas semen sapi Madura setelah pengenceran dengan *tris aminomethane* kuning telur yang disuplementasi α -tocopherol pada penyimpanan suhu ruang

Ishari Romadhoni, Achadiyah Rachmawati dan Suyadi

Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya
Jl. Veteran Malang 65145 Jawa Timur

suyadi@ub.ac.id

ABSTRACT : The purpose of this study was to investigate the effect of α -tocopherol in tris aminomethane extender on the quality of Madura cattle semen during storage at room temperature. Fresh semen was collected from Madura cattle bull using artificial vagina. The semen with individual motility of sperm more than 70% was used in this study. Semen was diluted with tris-aminomethane extender supplemented respectively by 0.0 mM, 0.5 mM, 1.0 mM and 1.5 mM α -tocopherol. Data were analyzed using analysis of variance. The results showed that the addition of α -tocopherol using egg yolk diluent tris aminomethane could not maintain the quality of Madura cattle semen motility, viability, abnormality and membrane integrity of spermatozoa ($P>0.05$) during storage at room temperature. The conclusion of the study was the addition of the antioxidant α -tocopherol into tris aminomethane egg yolk on the quality of semen had no influence ($P>0.05$) on individual motility, viability, abnormality and membrane integrity of spermatozoa after dilution during storage at room temperature.

Keywords: Semen, α -tocopherol, Madura bull

PENDAHULUAN

Plasma nutfah ternak mempunyai peranan penting dalam memenuhi kebutuhan pangan dan kesejahteraan bagi masyarakat dan lingkungannya. Indonesia sebagai negara tropis Indonesia memiliki plasma nutfah ternak cukup berlimpah, khusus untuk ternak sapi, Indonesia memiliki banyak bibit-bibit ternak sapi, salah satunya adalah Sapi Madura. Pemeliharaan Sapi Madura sebagai sapi potong merupakan usaha yang paling banyak dipelihara oleh peternak sehingga diharapkan mampu memberikan kontribusi dalam pemenuhan kebutuhan protein hewani. Guna mendukung hal tersebut

diperlukan penyebarluasan bibit unggul melalui Inseminasi Buatan (IB).

Keberhasilan dari IB ini dipengaruhi kualitas semen yang digunakan. Penerapan teknologi reproduksi dan biologi sel semen memerlukan ketersediaan semen yang berkualitas untuk diinseminasikan ke ternak betina. Salah satu kendalanya adalah rendahnya kualitas semen akibat rusaknya membran kepala spermatozoa selama penyimpanan yang salah satunya disebabkan oleh *Reactive Oxygen Species (ROS)* dan stress oksidatif. Stress oksidatif pada spermatozoa merupakan penyebab utama disfungsi semen sehingga menghambat proses fosforilasi.

Oksidasi fosforilasi yang terganggu menyebabkan peningkatan ROS semen, kadar ROS yang tinggi dalam sel dapat mengoksidasi lipid, protein dan DNA. Lipid membran plasma semen memiliki fosfolipid dengan kadar yang tinggi menyebabkan semen sangat rentan terhadap ROS (Sanoeka dan Kurpisz, 2004).

Guna mencegah terjadinya oksidasi yang tidak seimbang, maka dibutuhkan penambahan dosis *α-tocopherol* yang tepat. *α-tocopherol* merupakan antioksidan kuat yang larut dalam lemak dan efektif sebagai antioksidan pemutus rantai yang melindungi lipid unsaturated dari kerusakan radikal bebas.

Berdasarkan penjelasan tersebut, maka melalui penelitian ini diharapkan mendapatkan dosis *α-tocopherol* yang tepat untuk mempertahankan kualitas semen setelah pengenceran yang diinkubasi pada suhu ruang. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah penambahan dosis *α-tocopherol* yang tepat guna mencegah rendahnya kualitas semen segar setelah pengenceran pada penyimpanan suhu ruang. Manfaat penelitian ini diharapkan dapat memperoleh pemahaman tentang jumlah penambahan dosis *α-tocopherol* yang tepat guna mempertahankan kualitas semen cair setelah pengenceran pada suhu ruang.

MATERI DAN METODE

Materi penelitian

Materi penelitian ini adalah semen segar sapi Madura (Pajudan) umur 2 tahun dengan motilitas individu minimal 70%.

Metode penelitian

Metode penelitian ini adalah percobaan laboratorium. Semen segar sapi Madura yang baru diambil dari

penampungan dilakukan uji makroskopis meliputi volume, warna, bau, konsistensi pH. Sedangkan uji mikroskopis meliputi motilitas individu, motilitas massa, konsentrasi spermatozoa, viabilitas, abnormalitas dan integritas membran. Semen segar dimasukkan ke dalam tabung perlakuan P0, P1, P2, P3 dan diencerkan dengan tris aminomethane kuning telur 100 ml yang disuplementasi *α-tocopherol* sebanyak P0 = 0 mM, P1 = 0,5 mM, P2 = 1,0 mM dan P3 = 1,5 mM.

Analisis data

Data hasil penelitian dianalisis dengan ANOVA.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Evaluasi semen sapi Madura

Sebelum dilakukan pengenceran, semen dievaluasi untuk mengetahui kualitas semen dalam keadaan segar. Hasil pengamatan semen segar setelah penampungan selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 1.

Semen segar diambil dari BBIB dan berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, rata-rata volume semen segar sapi Madura adalah $3 \pm 0,381$ ml/ejakulasi. Beberapa laporan menunjukkan bahwa volume semen sapi Madura yaitu $4,786 \pm 1,489$ ml/ejakulasi (Rokhana, 2008). Berdasarkan literatur, volume semen segar sapi Madura dari hasil penelitian tergolong normal.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, konsentrasi spermatozoa (10^6) yaitu $1814,6 \pm 297,4$ dengan konsistensi yang kental. Konsistensi adalah derajat kekentalan yang erat kaitannya dengan konsentrasi spermatozoa. Semen sapi dengan konsistensi kental berwarna krem mempunyai konsentrasi 1000-2000 juta spermatozoa/ml. Konsistensi seperti susu encer mempunyai konsentrasi 500-

600 juta spermatozoa/ml. Semen yang cair dan sedikit kekeruhannya mempunyai konsentrasi sekitar 100 juta spermatozoa/ml. Sedangkan yang jernih seperti air kelapa konsentrasinya lebih

dari 50 spermatozoa/ml (Toelihere, 1993). Berdasarkan literatur, konsentrasi dan konsistensi semen segar sapi Madura hasil penelitian tergolong normal.

Tabel 1. Karakteristik semen sapi Madura

Variabel	Rataan ± sd
Makroskopis	
Volume (ml)	3 ± 0,38
Bau	Khas
Warna	Putih susu
pH	7,0 ± 0,0
Konsistensi	Kental
Mikroskopis	
Motilitas massa	2+
Motilitas individu (%)	73 ± 2,58
Viabilitas (%)	95,4 ± 2,39
Abnormalitas (%)	4,5 ± 1,88
Integritas membran (%)	78,83 ± 10,61
Konsentrasi (x 10 ⁶)	1814,6 ± 297,4

Tabel 1 juga menunjukkan bahwa semen dari hasil penelitian berwarna putih susu. Kartasudjana (2001) mengemukakan bahwa warna semen hasil ejakulasi pada masing-masing bangsa sapi berbeda-beda. Semen sapi pada umumnya memiliki warna putih sedikit krem atau putih susu atau kekuningan. Berdasarkan literatur, warna semen segar sapi Madura hasil penelitian tergolong normal.

Pengamatan derajat keasaman (pH) semen dalam penelitian diperoleh rata-rata 7,0±0,0. Penelitian Rokhana (2008) memperoleh pH sebesar 6,37±0,11. Nilai derajat keasaman semen sapi Madura sebesar 7,00±0,00 merupakan angka yang normal karena mendekati kisaran beberapa penelitian tentang pH semen sapi Madura.

Bau semen segar sapi Madura pada saat penelitian menunjukkan bau khas semen. Kartasudjana (2001) mengemukakan bahwa semen yang

normal umumnya mempunyai bau yang khas disertai bau dari hewan tersebut. Bila dibandingkan dari literatur, bau semen segar sapi Madura dari hasil penelitian tergolong normal dan tidak terdapat kontaminasi.

Motilitas massa semen segar sapi Madura pada saat penelitian sebesar 2+. Penilaian semen berdasarkan penilaian motilitas massa dapat ditentukan sebagai berikut: (1) Sangat baik (+++), jika terlihat adanya gelombang-gelombang besar, banyak, gelap, tebal dan aktif bergerak cepat berpindah-pindah tempat. (2) Baik (++), bila terlihat gelombang-gelombang kecil tipis, jarang, kurang jelas dan bergerak lamban. (3) Lumayan (+), jika tidak terlihat gelombang melainkan hanya gerakan-gerakan individu aktif progresif, dan (4) Buruk (0), bila hanya sedikit atau ada gerakan-gerakan individual (Toelihere, 1993). Berdasarkan literatur, motilitas massa

semen segar sapi Madura dari hasil penelitian tergolong baik.

Hasil penelitian didapatkan motilitas individu sebesar $73 \pm 2,58\%$. Motilitas individu spermatozoa pada semen sapi berkisar 50-75% (Toelihere, 1993). Berdasarkan literatur, motilitas individu semen segar sapi Madura dari hasil penelitian tergolong normal.

Viabilitas merupakan salah satu indikator penentu kualitas semen karena berhubungan daya hidup spermatozoa. Persentase viabilitas semen segar sapi Madura dari hasil penelitian sebesar $95,4 \pm 2,39\%$. Rokhana (2008) melaporkan rata-rata persentase viabilitas sebesar $69,73 \pm 16,69\%$. Berdasarkan literatur, viabilitas semen segar sapi Madura jauh lebih besar.

Persentase abnormalitas spermatozoa semen segar sapi Madura saat pengamatan sebesar $4,5 \pm 1,88\%$. Rokhana (2008) melaporkan bahwa abnormalitas spermatozoa sapi Madura sebesar $6,78 \pm 3,33\%$. Hasil dari penelitian ini menunjukkan jumlah abnormalitas yang jauh lebih kecil.

Kualitas semen sapi Madura setelah pengenceran pada suhu ruang

Hasil uji kualitas semen Sapi Madura menggunakan pengencer Tris Aminomethane kuning telur yang disuplementasi *α-tocopherol* setelah pengenceran pada suhu ruang meliputi: persentase motilitas, viabilitas, abnormalitas dan integritas membran dan bisa dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kualitas semen sapi Madura menggunakan pengencer *tris aminomethane* kuning telur yang disuplementasi *α-tocopherol* setelah pengenceran pada suhu ruang

Variabel	Penambahan <i>α-tocopherol</i> (mM) dalam pengencer			
	P0 (0)	P1 (0,5)	P2 (1,0)	P3 (1,5)
Motilitas (%)	$67 \pm 4,21$	$63 \pm 5,37$	$67 \pm 2,58$	$64 \pm 3,94$
Viabilitas (%)	$91,05 \pm 3,17$	$90,87 \pm 5,32$	$91,97 \pm 3,63$	$91,42 \pm 4,07$
Abnormalitas (%)	$17,74 \pm 4,20$	$19,13 \pm 5,01$	$14,85 \pm 1,77$	$18,23 \pm 4,14$
Integritas membran (%)	$51,11 \pm 27,33$	$50,79 \pm 33,22$	$59,77 \pm 26,03$	$55,61 \pm 26,79$

Motilitas spermatozoa

Hasil dari pengamatan menunjukkan bahwa penambahan *α-tocopherol* 0 mM (P0) dan 1 mM (P2) mempunyai hasil motilitas yang sama besar bila dibandingkan dengan penambahan *α-tocopherol* 0,5 mM (P1) dan 1,5 mM (P3). Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa penambahan *α-tocopherol* dalam pengencer tidak berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa ($P > 0,05$). Hal ini diduga bahwa ada beberapa spermatozoa yang mati dan menjadi toksik terhadap spermatozoa lain yang masih hidup sebelum penambahan *α-tocopherol*. Rizal dkk. (2004) menyatakan bahwa penurunan kualitas spermatozoa selama

penyimpanan, baik persentase motilitas progresif maupun keutuhan membran plasma diduga akibat banyaknya spermatozoa yang mati dan menjadi toksik terhadap spermatozoa lain yang masih hidup, sehingga secara umum kualitasnya menjadi menurun.

Viabilitas spermatozoa

Persentase viabilitas spermatozoa setelah diencerkan menggunakan pengencer *tris aminomethane* kuning telur yang disuplementasi *α-tocopherol* 1 mM sebesar $91,97 \pm 3,63$ (P2) lebih besar daripada rata-rata viabilitas spermatozoa pada P0 sebesar $91,05 \pm 3,174$, P1 sebesar $90,875 \pm 5,32$ dan P3 sebesar

91,42±4,07. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa penambahan *α-tocopherol* dalam pengencer tidak berpengaruh terhadap viabilitas spermatozoa ($P>0,05$).

Pada proses pengamatan viabilitas ini diduga sudah terjadi peroksidasi lipid pada spermatozoa sebelum penambahan *α-tocopherol* yang mengakibatkan kerusakan membran spermatozoa sehingga terjadi peristiwa kebocoran dan terbebasnya enzim-enzim intraseluler yang diperlukan untuk proses metabolisme. Keluarnya enzim-enzim tersebut mengakibatkan *ATP* rendah sehingga menyebabkan kematian spermatozoa. Reaksi peroksidasi dapat terjadi segera sesudah semen diejakulasikan. Oleh karena itu penambahan antioksidan tidak memberikan pengaruhnya karena membran plasma spermatozoa sudah rusak. Toelihere (1993) menyatakan bahwa pada semen dengan kualitas bagus, penambahan antioksidan akan mempertahankan daya hidup spermatozoa sapi, tetapi tidak demikian halnya pada semen dengan kualitas jelek karena proses peroksidasi yang sudah terjadi tidak dapat dihentikan dengan pemberian antioksidan.

Abnormalitas spermatozoa

Berdasarkan hasil pengamatan menunjukkan bahwa abnormalitas spermatozoa paling besar adalah P1 (0,5 mM). Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa penambahan *α-tocopherol* dalam pengencer tidak berpengaruh terhadap abnormalitas spermatozoa ($P>0,05$).

Pada proses pengamatan ini diduga abnormalitas sekunder semen terjadi sebelum diamati. Suyadi dan Susilawati (1992) menyatakan bahwa abnormalitas sekunder disebabkan gangguan setelah spermatozoa meninggalkan tubuli seminiferus, misalnya gangguan pada proses

pematangan, gangguan resorpsi, sekresi yang abnormal dari kelenjar aksesoris, gangguan mekanis, temperatur *shock*. Bentuk abnormalitas sekunder misalnya kepala bentuk normal tapi tanpa bagian tengah atau ekor, kepala tanpa akrosom, pembekakan dari bagian tengah atau ekor yang ringan.

Integritas membran spermatozoa

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa penambahan *α-tocopherol* 1 mM (P2) mempunyai integritas membran paling besar bila dibandingkan dengan penambahan *α-tocopherol* 0 mM (P0), 0,5 mM (P1) dan 1,5 mM (P3). Hasil dari analisis statistik menunjukkan bahwa penambahan *α-tocopherol* dalam pengencer tidak berpengaruh terhadap kerusakan membran kepala spermatozoa ($P>0,05$).

Hal ini diduga karena adanya kerusakan membran dan ketidakseimbangan tekanan osmotik pada spermatozoa yang disebabkan oleh peroksidasi lipid sebelum penambahan *α-tocopherol*. Rusaknya membran plasma dapat disebabkan adanya peroksidasi lipid pada bagian membran sel. Membran plasma terdiri dari 60% protein dan 40% lipid. Adapun lipid yang membentuk membran plasma terdiri atas 65% fosfolipid, 25% kolesterol dan 10% lipid lainnya. Lipid pada bagian membran plasma sangat rentan terhadap adanya reaksi peroksidasi (Rokhana, 2008).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Penambahan antioksidan *α-tocopherol* ke dalam pengencer *tris aminomethane* kuning telur terhadap kualitas semen tidak mempunyai pengaruh ($P>0,05$) pada motilitas individu, viabilitas, abnormalitas dan integritas membran spermatozoa setelah

pengenceran pada penyimpanan suhu ruang.

Saran

Berdasarkan data hasil penelitian disarankan untuk penelitian lebih lanjut tentang pengaruh *α-tocopherol* dengan lama penyimpanan yang berbeda dan kadar *α-tocopherol* yang lebih tinggi pada penyimpanan suhu ruang.

DAFTAR PUSTAKA

Sanoeka, D and Kurpisz, M. 2004. Reactive oxygen species and sperm cells. *Reproductive Biology and Endocrinology* 2(12): 1 – 7.

Rokhana, E. 2008. Hubungan antara jumlah false mounting dengan produksi semen pejantan sapi

Madura. Jurusan Peternakan. Fakultas Pertanian Universitas Islam Kediri. ISSN : 1693-6094.

Toelihere. 1993. Fisiologi reproduksi pada ternak. Angkasa, Bandung.

Kartasudjana, R. 2001. Teknik inseminasi buatan. Jakarta: Departemen Pendidikan Nasional.

Rizal, M., Herdis, dan A. Boediono. 2004. Daya hidup sperma epididimis domba setelah disimpan pada suhu rendah (5°C). *J. Anim. Prod.* 6(1) : 30 - 36.

Suyadi dan Susilawati, T. 1992. Pengantar fisiologi reproduksi. LUW Animal Husbandry Project Universitas Brawijaya. Malang.