

Hubungan Lama Waktu Sexing Dengan Kualitas Spermatozoa Sapi Bali (*Bos Sondaicus*) Pada Medium Sexing Tris-Kuning Telur.

The Relationship of Sexing Time and Quality of Bali Bull (*Bos sondaicus*) Spermatozoa on Tris-Egg Yolk Dilution Agent

Luzardin¹, Takdir Saili¹, Achmad Selamat Aku¹

¹Fakultas Peternakan Universitas Halu Oleo, Kendari Sulawesi Tenggara, Indonesia

luzardinatan@gmail.com

Abstrak. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan lama waktu sexing dengan kualitas spermatozoa sapi bali (*Bos sondaicus*) pada medium sexing tris-kuning telur. Rancangan yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri atas 3 perlakuan (lama waktu sexing) dan setiap perlakuan terdiri atas 6 ulangan (frekuensi penampungan). Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : P1 (waktu sexing 20 menit), P2 (waktu sexing 30 menit), P3 (waktu sexing 40 menit). Semen yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari sapi pejantan milik Unit Pelaksanaan Teknis Daerah (UPTD) Perbibitan Ternak dan Pakan Ternak Kecamatan Konda dimana terlebih dahulu dilakukan penampungan semen yang dilanjutkan dengan prosedur sexing spermatozoa menggunakan medium sexing Tris-Kuning Telur dengan durasi yang berbeda sesuai perlakuan. Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah konsentrasi spermatozoa, persentase motilitas, persentase viabilitas dan persentase membran plasma utuh (MPU). Berdasarkan hasil penelitian, lama waktu sexing yang berbeda sangat berpengaruh ($P < 0.01$) terhadap konsentrasi spermatozoa dan persentase motilitas spermatozoa setelah sexing namun tidak berpengaruh ($P > 0.05$) terhadap persentase viabilitas dan persentase membran plasma utuh (MPU) spermatozoa.

Abstract. The objectives of this research were to evaluate the relation of sexing period and quality of Bali bull (*Bos sondaicus*) spermatozoa on Tris-Egg Yolk dilution agent. The research was design based on Complete Randomized Design using 3 treatments and 6 replications. The treatments were 3 different sexing durations consisted of 20 minutes (P1), 30 minutes (P2), and 40 minutes (P3). Semen was taken and store to process using sexing procedure of Tris-Egg Yolk dilution agent from Bali bull of UPTD Perbibitan Ternak dan Pakan Ternak, Konda District with different duration according to treatment. Variables measured were sperm concentration, motility, viability, and undamaged plasma membrane percentage. The results of this study shown that different sexing duration gave significant effect ($P < 0.01$) on sperm concentration and motility, but it gave no significant effect ($P > 0.05$) on sperm viability and undamaged plasma membrane percentage.

1. Pendahuluan

Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk meningkatkan produktivitas ternak khususnya sapi potong sebagai sumber protein hewani adalah penerapan teknologi reproduksi. Salah satu teknologi yang biasa digunakan adalah Inseminasi Buatan (IB). Inseminasi buatan adalah usaha manusia memasukan spermatozoa ke dalam saluran reproduksi betina dengan menggunakan peralatan khusus [1]. Melalui teknologi IB, angka kelahiran pedet dapat ditingkatkan dan penyakit kelamin yang disebarkan melalui proses perkawinan dapat dihindari. Pengembangan teknologi IB tidak hanya terbatas pada peningkatan angka kelahiran, namun dapat pula digunakan untuk menghasilkan pedet dengan jenis kelamin sesuai dengan yang diinginkan oleh peternak. Hal tersebut dapat dilakukan melalui penggunaan semen hasil sexing. Berbagai metode sexing telah dicobakan untuk menghasilkan semen dengan kandungan

spermatozoa yang membawa kromosom sejenis (X atau Y) dan salah satu metode yang dianggap cukup sederhana dilakukan adalah metode kolom albumin.

Penerapan metode kolom albumin yang menggunakan medium *bovine serum albumin* (BSA) melalui tahapan pencucian spermatozoa setelah proses sexing dengan cara sentrifugasi. Prosedur ini berpotensi menurunkan motilitas spermatozoa. Oleh karena itu, pada penelitian ini digunakan medium Tris-kuning telur yang telah banyak digunakan sebagai bahan pengencer semen ternak sapi. Penggunaan medium Tris-kuning telur pada sexing spermatozoa tidak melalui tahapan pencucian spermatozoa setelah proses sexing dilakukan, sehingga penurunan motilitas spermatozoa akibat pencucian dapat dihindari.

2. Materi dan Metode

Penelitian ini dilaksanakan selama 2 bulan sejak bulan April 2018 sampai dengan Mei 2018 di Laboratorium Unit Pelaksana Teknis Daerah Pembibitan Ternak dan Pakan Ternak Desa Morome, Kecamatan Konda, Kabupaten Konawe Selatan. Materi yang digunakan pada penelitian ini adalah semen yang diperoleh dari seekor sapi Bali jantan berumur ± 4 tahun dengan berat ± 350 kg. Sapi dipelihara secara intensif di UPTD peternakan dan diberi pakan rumput gajah (10% dari bobot badan) dan konsentrat sebanyak 4-5 kg perhari. Selain itu, juga digunakan seperangkat alat vagina buatan, mikroskop haemocytometer, medium Tris-kuning, eosin nigrosin, larutan hipo-osmotik 0,032 M NaCl.

Rancangan yang digunakan pada penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri atas tiga perlakuan dan enam ulangan. Perlakuan dalam penelitian ini adalah lama waktu sexing (P1 : 20 menit, P2: 30 menit, dan P3 : 40 menit) sedangkan ulangan adalah jumlah atau frekuensi penampungan spermatozoa.

Penampungan semen dilakukan dengan menggunakan seperangkat alat vagina buatan. Semen segar yang telah ditampung kemudian diencerkan menggunakan larutan NaCl fisiologis 0,9% hingga konsentrasinya mencapai 200 juta sel per mili liter. Satu mili liter sampel dimasukkan ke dalam tabung yang telah berisi medium Tris-kuning telur. Secara perlahan sampel dimasukkan dengan menggunakan mikropipet dengan menempelkan ujung pipet ke ujung bagian dalam tabung. Proses sexing dilakukan dengan durasi yang berbeda (20 menit, 30 menit, dan 40 menit) sesuai perlakuan. Setelah proses sexing, fraksi semen disedot sampai habis sehingga menyisahkan 1 mili liter bagian bawah yang kemudian dilanjutkan dengan uji mikroskopik meliputi konsentrasi, motilitas, viabilitas dan membran plasma utuh.

Data yang diperoleh selanjutnya ditabulasi dan dianalisis menggunakan sidik ragam. Apabila perlakuan berpengaruh terhadap peubah yang dievaluasi maka dilanjutkan dengan uji beda nyata antar perlakuan menggunakan uji Duncan.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Konsentrasi Spermatozoa

Konsentrasi semen yaitu jumlah spermatozoa yang terkandung dalam satu ml ejakulasi. Penilaian konsentrasi spermatozoa sangat penting karena faktor inilah yang menggambarkan sifat-sifat spermatozoa yang dipakai sebagai salah satu kriteria penentuan kualitas semen [2]. Berdasarkan hasil analisis ragam menunjukkan bahwa lama waktu sexing berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap konsentrasi spermatozoa setelah sexing (Tabel 1). Konsentrasi spermatozoa paling tinggi diperoleh pada P3 sebesar $50.67 \pm 3.33 (10^6)$, di ikuti dengan P2 sebesar $42.17 \pm 4.79 (10^6)$ kemudian P1 sebesar $23 \pm 5.62 (10^6)$. Hal ini diduga lebih lamanya waktu sexing yang dilakukan maka akan lebih banyak pula konsentrasi spermatozoa yang ada pada lapisan atas bergerak turun kelapisan bawah sehingga spermatozoa yang membawa kromosom Y yang diduga memiliki kepala yang kecil dibanding spermatozoa yang membawa kromosom X akan lebih dulu tersaring dan mencapai lapisan bawah. Proses sentrifugasi 5 menit pemisahan antara lapisan atas dan lapisan bawah kurang berjalan dengan sempurna, sehingga pada lapisan atas masih banyak tersisa populasi spermatozoa yang seharusnya turun ke lapisan bawah, sedangkan pada perlakuan 7 menit dimungkinkan mendapat waktu

sentrifugasi yang cukup untuk pemisahan lapisan atas dan bawah sehingga populasi spermatozoa yang berada pada lapisan atas sudah turun ke lapisan bawah sesuai dengan ukuran spermatozoa [3].

Tabel 1. Hasil uji mikroskopik semen sapi Bali setelah sexing

Variabel	Lama waktu sexing		
	P1 (20 menit)	P2 (30 menit)	P3 (40 menit)
Konsentrasi	23.00±5.62 ^a	42.17±4.79 ^b	50.67±3.33 ^c
Motilitas	80.00±0.00 ^a	73.33±5.16 ^b	71.67±4.08 ^b
Viabilitas	87.19±1.74	87.45±1.24	87.17±1.72
MPU	90.95±2.13	89.89±1.55	89.48±2.93

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perlakuan berbeda sangat nyata ($P < 0.01$)

3.2. Motilitas Spermatozoa

Motilitas atau daya gerak spermatozoa merupakan ukuran yang digunakan sebagai kesanggupan spermatozoa untuk membuahi sel telur [4]. Berdasarkan hasil analisis ragam menunjukkan bahwa lama waktu sexing berpengaruh sangat nyata ($P < 0.01$) terhadap motilitas spermatozoa setelah sexing (Tabel 1). Rataan motilitas spermatozoa yang paling tinggi yaitu P1 sebesar 80.00±0.00 di ikuti dengan P2 sebesar 75.00±5.48 dan P3 sebesar 71.67±4.08. Hal ini menunjukkan bahwa semakin lama waktu sexing yang digunakan maka motilitas spermatozoa akan semakin menurun yang kemungkinan diakibatkan oleh besarnya energi yang dibutuhkan spermatozoa untuk bergerak ke bawah menembus lapisan bawah. Jarak untuk menembus pada lapisan bawah lebih jauh sehingga motilitas lapisan bawah lebih sedikit dibanding lapisan atas [5]. Selama menempuh jarak tersebut, spermatozoa membutuhkan energi yang semakin besar disetiap jarak yang ditempuh untuk menembus densitas yang paling tinggi, sedangkan tidak cukup tersedia energi bagi spermatozoa, kebutuhan energi yang tidak mencukupi dapat menurunkan motilitas. Rata-rata motilitas yang semakin tinggi akan lebih baik kualitasnya mengingat perjalanan jauh spermatozoa yang nantinya akan diarungi untuk membuahi ovum [3].

3.3. Viabilitas Spermatozoa

Viability atau spermatozoa hidup adalah syarat mutlak bagi terjadinya fertilisasi [4]. Spermatozoa yang hidup dan mati dapat dibedakan reaksinya terhadap warna tertentu, sel spermatozoa yang tidak motil dan dianggap mati menghisap warna dan sel spermatozoa yang motil dan yang hidup tidak berwarna [6]. Berdasarkan hasil analisis ragam menunjukkan bahwa lama waktu sexing tidak berpengaruh nyata ($P > 0.05$) terhadap viabilitas spermatozoa setelah sexing (Tabel 1). Rataan viabilitas spermatozoa setelah sexing yaitu P1 sebanyak 87.19±1.74, P2 sebanyak 87.45±1.24, dan P3 sebanyak 87.17±1.72.

Spermatozoa adalah sel kecambah yang mana setelah masak kemudian bergerak melalui epididimis, yang mampu membuahi ovum melalui suatu proses spermatogenesis dan mengalami pematangan yang mempunyai fungsi untuk pembuahan ovum hewan betina. Agar fungsi ini dapat berjalan dengan baik perlu memperhatikan viabilitas spermatozoanya. Viabilitas yaitu persentase hidup spermatozoa didasarkan atas perbedaan daya permeabilitas terhadap cairan pada spermatozoa yang diberi pewarna eosin dan dibuat preparat ulas untuk membedakan spermatozoa yang hidup dan yang mati [7].

3.4. Membran Plasma Utuh (MPU)

Persentase MPU adalah keutuhan membran plasma spermatozoa diamati dengan metode HOS test. Spermatozoa dengan membran plasma yang masih utuh akan menahan cairan osmolalitas dalam sel, sehingga ekor terlihat melingkar atau membengkok sedangkan spermatozoa dengan ekor yang lurus menunjukkan membran plasma telah mengalami kerusakan karena tidak mampu menahan cairan yang masuk ke dalam sel [8]. Berdasarkan hasil analisis ragam menunjukkan bahwa lama waktu sexing tidak berpengaruh nyata ($P > 0.05$) terhadap persentase Membran Plasma Utuh (MPU). Rataan persentase

membran plasma utuh tertinggi terdapat pada P1 sebesar 90.95 ± 2.13 , diikuti P2 sebesar 89.89 ± 1.55 dan P3 sebesar 89.48 ± 2.93 . Berdasarkan hasil di atas bahwa setiap perlakuan mengalami penurunan persentase membran plasma utuh hal ini di akibatkan penurunan energi dalam setiap perlakuan.

Keutuhan membran plasma sangat diperlukan oleh spermatozoa, karena kerusakan membran plasma akan berpengaruh terhadap proses metabolisme dan berhubungan dengan motilitas serta daya hidup spermatozoa yang dihasilkan [9]. Metabolisme sel akan berlangsung baik jika membran plasma sel berada dalam keadaan yang utuh, sehingga mampu dengan baik mengatur lalu lintas masuk dan keluar dari sel semua substrat dan elektrolit yang dibutuhkan dalam proses metabolisme. Hal lain yang menyebabkan kemungkinan terjadinya penurunan membran plasma utuh yaitu tekanan hipo-osmotik dari larutan Natrium Chlorida (NaCl). NaCl memiliki sifat osmotik yang tinggi, pada bidang reproduksi sering digunakan untuk menghentikan pergerakan spermatozoa atau mematikan sel spermatozoa [7]. Pengaruh pemberian larutan NaCl pada semen yang dapat mengakibatkan sel spermatozoa berhenti bergerak karena tidak adanya pasokan energi dari organel mitokondria. Ini terjadi karena membran plasma tidak berfungsi dengan baik. Membran plasma dimiliki oleh spermatozoa agar dapat memfertilisasi karena selain berfungsi melindungi secara fisik organel-organel sel, membran plasma juga mengatur keluar masuknya zat-zat makanan. Apabila membran plasma rusak maka proses metabolisme sel akan terganggu dan berakibat kematian spermatozoa.

4. Kesimpulan

Lama waktu sexing sangat berpengaruh terhadap jumlah (konsentrasi) spermatozoa setelah sexing dan persentase motilitas namun tidak berpengaruh terhadap persentase viabilitas dan persentase MPU spermatozoa sapi bali (*Bos sondaicus*). Konsentrasi terbanyak spermatozoa diperoleh pada lama waktu sexing 40 menit sedangkan motilitas tertinggi diperoleh pada lama waktu sexing 20 menit.

5. Daftar Pustaka

- [1] Hastuti, D. 2008. *Tingkat keberhasilan inseminasi buatan sapi potong di tinjau dari konsepsi dan service per conception*. Jurnal Ilmu-ilmu Pertanian, 4(1):12-20.
- [2] Aisah, S., N. Insani dan S. Wahyuningsih. 2017. *Kualitas semen segar dan recovery rate sapi Bali pada musim yang berbeda*. Jurnal ilmu-ilmu peternakan, 27(1):63-79.
- [3] Fatahillah., T. Susilawati., N. Ismani. 2016. *Pengaruh lama sentrifugasi terhadap kualitas dan proporsi spermatozoa X-Y sapi Limousin hasil sexing dengan gradien densitas percoll menggunakan pengencer Cep-2+10%KT*. J. Ternak Tropika, 17(1):86-97.
- [4] Munazaroh, A. M., S. Wahyuni dan G. Ciptadi. 2013. *Uji kualitas spermatozoa kambing Boer hasil pembekuan menggunakan Mr. Frosty pada tingkat pengenceran andromed berbeda*. J. Ternak Tropika, 14 (2):63-71.
- [5] Saili, T. 1999. *Efektifitas penggunaan albumin sebagai medium separasi dalam upaya mengubah rasio alamiah spermatozoa pembawa kromosom X dan Y pada Sapi*. Tesis. Program Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor.
- [6] Susilawati, T. 2013. *Pedoman Inseminasi Buatan Pada Ternak*. UB Press, Malang.
- [7] Soi, M. N. J. 2016. *Uji viabilitas spermatozoa sapi Bali jantan dengan menggunakan larutan Natrium Chlorida (NaCl) yang berbeda level*. Journal of Animal Science, JAS 1(2):28-29.
- [8] Arsiwan., T. Saili., L.D. Ba'a dan S. Rahadi. 2014. *Membran plasma utuh spermatozoa epididimis kambing Peranakan Ettawa dalam Natrium Klorida dengan konsentrasi berbeda*. JITRO, 1(1):79-87
- [9] Surachman, S., Herdis., Yulnawati., M. Rizal dan H. Maheshwari. 2009. *Kualitas semen cair asal epididimis kerbau belang dalam bahan pengencer andromed yang mendapat penambahan sukrosa*. Media Peternakan, 32 (2):88-94.