

Kondisi Membran Plasma Spermatozoa Sapi Bali Setelah Dipaparkan di Dalam Larutan Saline dengan Berbagai Konsentrasi

(Condition of spermatozoa plasma membrane of bali cattle after exposed in saline solution with various concentrations)

Ella Fauzya¹, Takdir Saili¹, Asma Bio Kimestri, dan Rahim Aka¹

¹Faculty Of Animal Science, Halu Oleo University, South East Sulawesi, Indonesia

rahim.aka05@uho.ac.id

Abstrak. Kondisi membran plasma spermatozoa adalah salah satu faktor yang mempengaruhi kualitas spermatozoa dan sangat penting dan mendasar dalam proses pembuahan. Penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi kondisi membran plasma spermatozoa sapi Bali yang diinkubasi dalam larutan saline (NaCl) dengan berbagai konsentrasi berbeda. Semen yang digunakan berasal dari sapi pejantan milik UPTD dari Pusat Pembibitan dan Pakan Hewan Provinsi Sulawesi Tenggara. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 7 perlakuan dengan 4 ulangan (penampungan semen). Perlakuan adalah konsentrasi larutan NaCl, yaitu P1 (0,6%), P2 (0,7%), P3 (0,8%), P4 (0,9%), P5 (1,0%), P6 (1,1%), P7 (1,2%). Pemeriksaan kondisi membran plasma spermatozoa menggunakan metode pewarnaan eosin nigrosine untuk melihat perubahan yang terjadi pada membran plasma spermatozoa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian larutan NaCl memiliki pengaruh yang sangat signifikan ($P < 0,01$) pada kondisi membran plasma spermatozoa sapi Bali. Persentase tertinggi membran plasma utuh spermatozoa adalah pada konsentrasi larutan P4 (89,29%). Spermatozoa sapi Bali cenderung bertahan pada konsentrasi larutan lebih rendah dari 0,9% (0,6%; 0,7%; 0,8%) dengan rata-rata 75,04% dibandingkan dengan larutan yang lebih tinggi dari 0,9%. Konsentrasi NaCl 0,9% dapat mempertahankan membran plasma spermatozoa sapi Bali dengan persentase tertinggi 89,29%. Larutan NaCl dengan konsentrasi 0,8% dan 1,0% dapat ditoleransi oleh membran plasma spermatozoa sapi Bali dengan nilai persentase 80,68% dan 85,53%.

Kata kunci: Spermatozoa, Membran Plasma, Sapi Bali, NaCl

Abstract. Spermatozoa plasm membrane condition is one of the essential and fundamental factors that affect the quality of spermatozoa and process of fertilization. This research was conducted to evaluate the condition of spermatozoa plasm membrane of Bali cattle which was incubated in saline (NaCl) solution with various concentrations. The semen used were produced from bull owned by UPTD of the Breeding and Animal Feed Center of Southeast Sulawesi. This study used a Completely Randomized Design (CRD) consisting of 7 treatments with 4 replications (semen collection). The treatments were the concentration of NaCl solution, namely P1 (0.6%), P2 (0.7%), P3 (0.8%), P4 (0.9%), P5 (1.0%), P6 (1, 1%), and P7 (1.2%). Condition of spermatozoa plasm membrane was done by eosin nigrosine staining method to observe changes that occur in the plasm membrane. The results showed that the addition of NaCl solution had a very significant effect ($P < 0.01$) on condition of spermatozoa plasm membrane of Bali cattle. The highest percentage of intact spermatozoa plasm membrane was at treatment P4 (89.29%). Bali cattle spermatozoa tend to survive at a solution concentration lower than 0.9% (0.6%; 0.7%; 0.8%) with an average of 75.04% compared to a solution higher than 0.9% (1% ; 1.1%; 1.2%) which is only 62.96%. NaCl concentration on 0.9% was able to maintain the spermatozoa plasm membrane of Bali cattle with the highest percentage of 89.29%. Meanwhile, the NaCl solution with a concentration of 0.8% and 1.0% can be tolerated by Bali cattle spermatozoa plasm membrane with percentage value of 80.68% and 85.53%.

Keywords: Spermatozoa, plasm membrane, Bali cattle, NaCl

1. Pendahuluan

Teknologi reproduksi ternak sangatlah berperan penting untuk meningkatkan produktivitas sapi bali. Pemanfaatan teknologi inseminasi buatan (IB) dengan menggunakan semen berkualitas merupakan suatu upaya untuk meningkatkan produktivitas ternak. IB merupakan cara paling berhasil dan dapat diterima secara luas oleh masyarakat [1]. Banyak faktor yang mempengaruhi keberhasilan IB antara lain status reproduksi ternak betina, keterampilan inseminator, ketepatan pelaporan deteksi berahi dan kualitas semen. Evaluasi kualitas semen merupakan bagian terpenting dalam memprediksi fertilitas hewan.

Salah satu variabel yang menentukan kualitas spermatozoa adalah keutuhan membrannya. Keutuhan membran spermatozoa dapat dievaluasi baik dengan menggunakan zat warna eosin (pemeriksaan viabilitas) maupun pemeriksaan keutuhan membrane menggunakan *hypo-osmotic swelling test* (HOS-test). Larutan saline biasa dikenal sebagai larutan NaCl yang umumnya memiliki kisaran konsentrasi 0,9% dan memiliki kemampuan sebagai pengencer alternatif dalam pemeriksaan morfologi spermatozoa. Larutan ini tidak mempengaruhi kondisi fisik spermatozoa dan memiliki sifat isotonik. Konsentrasi larutan NaCl yang berbeda akan menimbulkan tekanan osmosis yang berbeda pula pada larutan tersebut.

2. Metode Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan selama empat bulan di Unit Pelaksana Teknis Daerah (UPTD) Balai Perbibitan dan Pakan Ternak Provinsi Sulawesi Tenggara di Desa Morome Kecamatan Konda Kabupaten Konawe Selatan Sulawesi Tenggara. Materi yang digunakan pada penelitian ini adalah semenyang diperoleh dari sapi bali jantan dengan umur ± 4 tahun dengan bobot badan ± 350 kg. Sapi jantan tersebut dipelihara di UPTD peternakan dan diberi pakan rumput gajah (10% dari bobot badan) dan konsentrat sebanyak 4-5 kg/hari. Bahan lain yang digunakan NaCl kristal dan aquades untuk membuat larutan osmotik sesuai dengan konsentrasi tiap-tiap perlakuan dan larutan eosin nigrosin untuk pemeriksaan viabilitas dan uji pewarnaan.

Larutan NaCl dalam berbagai konsentrasi dibuat dengan cara melarutkan sejumlah NaCl kristal ke dalam aquadest. NaCl yang digunakan pada setiap perlakuan ditimbang terlebih dahulu dengan menggunakan timbangan analitik sebelum dilarutkan ke dalam aquadest sesuai dengan konsentrasi menurut perlakuan.

Sampel semen segar ditampung menggunakan vagina buatan kemudian dievaluasi kualitasnya baik secara makroskopis (volume, warna, bau, pH, dan konsistensi) maupun secara mikroskopis (persentase motilitas, persentase daya hidup, dan konsentrasi). Sebanyak 10 μ l semen diencerkan dalam larutan NaCl dengan konsentrasi sesuai dengan perlakuan sebanyak 3 ml dan diinkubasi didalam *water bath* selama 30 menit.

Evaluasi dilakukan dengan cara meneteskan semen diatas gelas objek dan dihomogenkan dengan eosin, dibuat preparat ulas pada gelas objek dan difiksasi kemudian diperiksa dibawah mikroskop dengan menghitung jumlah spermatozoa berkepala putih dan spermatozoa berkepala merah pada pembesaran 400X.

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 7 perlakuan dan 4 ulangan. Dimana perlakuan adalah konsentrasi larutan NaCl yang berbeda dan ulangan adalah jumlah penampungan semen. Perlakuan dalam penelitian ini adalah konsentrasi NaCl yang terdiri atas:

- P1 = 6 g NaCl + 10 ml aquades (0.6%)
- P2 = 7 g NaCl + 10 ml aquades (0.7%)
- P3 = 8 g NaCl + 10 ml aquades (0.8%)
- P4 = 9 g NaCl + 10 ml aquades (0.9%)
- P5 = 10 g NaCl + 10 ml aquades (1%)
- P6 = 11 g NaCl + 10 ml aquades (1.1%)
- P7 = 12 g NaCl + 10 ml aquades (1.2%)

Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif, sedangkan yang berhubungan dengan pengaruh perlakuan terhadap persentase membran plasma spermatozoa dianalisis menggunakan analisis ragam (ANOVA). Jika perlakuan berpengaruh nyata maka dilakukan uji lanjut menggunakan uji Duncan yang mengacu pada [2].

3. Hasil Dan Pembahasan

Evaluasi atau analisis semen dilakukan untuk melihat kualitas semen [3]. Semen yang baru ditampung harus dievaluasi sesegera mungkin. Evaluasi semen terdiri dari evaluasi makroskopis (volume, bau, warna, pH dan konsistensi) dan evaluasi mikroskopis (motilitas, viabilitas, dan konsentrasi). Hasil evaluasi semen segar adalah tahap awal dalam menentukan kelayakan semen yang akan diproses lebih lanjut. Hasil evaluasi makroskopis dan mikroskopis semen segar sapi bali pada penelitian ini disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Evaluasi Makroskopis dan Mikroskopis Semen Segar Sapi Bali

Parameter	Nilai
Evaluasi makroskopis	
Volume (ml)	6,67±1,70
Warna	Putih Krem
Bau	Normal
pH	6,5±0,41
Konsistensi	Sedang-Kental
Evaluasi mikroskopis	
Gerak Massa	+++
Motilitas (%)	80±8,16
Viabilitas (%)	99,77±0,26
Konsentrasi (juta/ml)	1436,75±470,23

3.1 Evaluasi Makroskopis

Volume semen segar sapi bali yang ditampung selama penelitian ini masih berada pada kisaran yang normal yaitu berkisar antara 5-9 ml dengan rata-rata 6,67 ml. Volume semen sapi antara 5-8 ml [4]. Penelitian sebelumnya menyebutkan rata-rata volume semen segar sapi bali sebanyak 6,23 ml dan 6,47 ml [6], [5]. Volume semen per ejakulasi sapi rata-rata 4-10 ml rata-rata 6 ml [7]. Adanya perbedaan volume semen terhadap satu spesies yang sama disebabkan oleh umur, ukuran tubuh dan frekuensi ejakulasi. Volume rendah sebetulnya tidak merugikan, namun jika disertai dengan rendahnya konsentrasi spermatozoa rendah akan membatasi jumlah spermatozoa yang tersedia [7].

Warna semen dapat langsung dilihat sesaat setelah penampungan. Warna sapi bali pada penelitian adalah warna putih krem. Hasil penelitian sebelumnya melaporkan semen segar sapi Bali berwarna krem dan putih susu [8], [5]. Secara umum warna semen yaitu putih keruh, putih susu, krem, krem kekuning-kuningan sampai dengan warna putih keabu-abuan [9]. Sebanyak 10% sapi jantan menghasilkan semen normal dengan warna kekuning-kuningan atau krem tua [7]. Warna ini disebabkan oleh pigmen *riboflavin* yang dibawa oleh satu gen autosomal resesif serta tidak mempengaruhi fertilitas.

Semen segar yang digunakan selama penelitian ini memiliki bau yang normal yaitu berbau amis yang khas. Semen yang normal pada umumnya mempunyai bau yang khas disertai bau dari hewan tersebut. Bau amis yang khas ini menunjukkan semen tidak terkontaminasi oleh zat kontaminator seperti darah, nanah, urin dan lain-lain [10].

Rataan nilai pH yang didapatkan adalah 6,5 dan tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian sebelumnya dengan rata-rata pH semen sapi bali adalah 6,60±0,16 hingga 7 [11], [5]. Nilai ini tergolong normal karena kisaran pH semen sapi adalah 6,4-7,8 [12]. Beberapa faktor yang mempengaruhi variasi nilai pH diantaranya adalah adanya aktivitas spermatozoa dalam menguraikan fruktosa sehingga pH menjadi turun, kontaminasi dengan mikroorganisme sehingga pH naik, serta perbedaan cara

mengoleksi semen [13]. Tinggi rendah nilai pH semen yang dihasilkan berkaitan dengan konsentrasi spermatozoa. Konsentrasi spermatozoa yang tinggi menyebabkan semen lebih asam daripada semen dengan konsentrasi spermatozoa yang rendah.

Konsistensi atau derajat kekentalan yang diperoleh pada penelitian ini adalah sedang sampai kental. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilaporkan sebelumnya yaitu semen sapi bali memiliki konsistensi sedang hingga kental [3], [11]. Konsistensi semen memiliki korelasi dengan warna dan konsentrasi[7].

3.2 Evaluasi Mikroskopis

Gerak massa spermatozoa pada penelitian ini terlihat memiliki gelombang-gelombang besar, banyak, gelap, tebal dan aktif bergerak (+++). Hasil penelitian ini lebih tinggi dari hasil penelitian yang dilaporkan sebelumnya dengan gerak massa (++) [3], [11]. Semen yang memiliki gerak massa spermatozoa (++) hingga (+++) dapat diproses lebih lanjut.

Rataan viabilitas semen segar yang didapatkan pada penelitian ini adalah $99,77 \pm 0,26\%$. Rataan viabilitas ini lebih tinggi dibandingkan dengan hasil penelitian sebelumnya yang hanya mencapai $86,28\%$ dan $86,00\%$ [14], [15]. Tingginya nilai viabilitas yang didapatkan diduga karena spermatozoa belum terkontaminasi oleh bahan lain.

Persentase motilitas spermatozoa merupakan salah satu indikator utama dalam proses evaluasi spermatozoa. Rataan persentase motilitas semen segar sapi bali pada penelitian ini adalah 80% . Hasil dari beberapa penelitian juga melaporkan bahwa rata-rata persentase motilitas spermatozoa semen segar sapi bali adalah 79% , $70-75\%$, dan $90,44\%$ [16], [17], [6]. Motilitas spermatozoa di bawah 40% menunjukkan nilai semen yang kurang baik, karena kisaran persentase motilitas spermatozoa yang layak digunakan untuk fertilisasi adalah $50-80\%$ spermatozoa yang motil aktif progresif [4].

Banyaknya konsentrasi semen yang dihasilkan oleh sapi pejantan akan menentukan jumlah sapi betina yang bisa diinseminasi. Rataan konsentrasi semen yang didapatkan pada penelitian ini adalah $1.436,75 \pm 470,23$ juta/ml. Hasil ini tidak jauh berbeda dengan hasil dari beberapa peneliti menunjukkan bahwa rata-rata konsentrasi semen sapi Bali segar adalah 1.370 juta/ml, 1.256 juta/ml, 1.741 juta/ml, 1.328 juta/ml [16], [17], [6], [11]. Semen yang didapatkan dalam penelitian ini termasuk dalam golongan semen yang berkonsistensi kental dan merupakan semen dengan kualitas yang baik.

3.3 Evaluasi sesudah perlakuan

Data kondisi membran plasma spermatozoa sapi bali setelah diinkubasi didalam larutan saline dengan berbagai konsentrasi disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Kondisi Membran Plasma Spermatozoa Sapi Bali Setelah Diinkubasi Didalam Larutan Saline dengan Berbagai Konsentrasi

Perlakuan	Keutuhan Membran Plasma Spermatozoa (%)
P1(0,6%)	$66,22 \pm 1,82^c$
P2(0,7%)	$78,22 \pm 0,58^d$
P3(0,8%)	$80,68 \pm 0,68^d$
P4(0,9%)	$89,29 \pm 1,80^f$
P5(1,0%)	$85,53 \pm 2,21^e$
P6(1,1%)	$54,55 \pm 2,25^b$
P7 (1,2%)	$48,79 \pm 2,98^a$

Keterangan: Superskrip yang berbeda dalam kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($P > 0,01$)

Penggunaan larutan saline dengan berbagai konsentrasi berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap kondisi membran plasma spermatozoa sapi bali. Nilai rata-rata pada penelitian ini lebih rendah dibandingkan dengan penelitian yang dilaporkan sebelumnya dengan nilai rata-rata $93,44\%$ [5], namun lebih tinggi dari beberapa penelitian yang lain dengan nilai rata-rata berkisar antara $77,58-86,75\%$ [18].

[14]. Perbedaan kondisi membran plasma spermatozoa di sebabkan oleh perbedaan konsentrasi larutan yang digunakan.

Perlakuan dengan pemberian 0,9% (P4) mendapatkan nilai tertinggi ($89,29\% \pm 1,80$) karena larutan salin 0,9% merupakan larutan isotonik bersifat fisiologis yang mempunyai konsentrasi zat terlarut yang sama (tekanan osmotik yang sama) seperti larutan yang lain, sehingga tidak ada pergerakan air. Nilai rata-rata membran plasma spermatozoa pada perlakuan 0,8% (P3) dan 1,0% (P5) juga memiliki nilai rata-rata yang tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian larutan dengan konsentrasi 0,8% dan konsentrasi 1,0% dapat ditoleransi oleh membran plasma spermatozoa sapi bali. Salah satu kriteria kualitas spermatozoa yang baik adalah apabila memiliki nilai persentase keutuhan membran lebih dari 80% [19]. Dengan begitu dapat dinyatakan bahwa persentase membran plasma spermatozoa sapi bali pada penelitian ini memiliki kualitas yang baik.

Penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan pada membran plasma spermatozoa epididimis kambing Peranakan Etawa dalam natrium klorida dan mendapati rata-rata tertinggi membran plasma spermatozoa berada pada larutan yang memiliki konsentrasi 0,9% [20]. Konsentrasi larutan salin (NaCl) yang paling optimum untuk membran plasma spermatozoa adalah 0,9% dan spermatozoa cenderung dapat bertahan pada konsentrasi larutan salin lebih rendah dari 0,9% dengan batas toleransi 0,6% dibandingkan dengan konsentrasi larutan yang lebih tinggi dari 0,9%.

4. Kesimpulan

Konsentrasi saline (NaCl) 0,9% dapat mempertahankan kondisi membran plasma spermatozoa sapi bali dengan persentase tertinggi yaitu 89,29%. Larutan saline (NaCl) dengan konsentrasi 0,8% dan 1,0% dapat ditoleransi oleh membran plasma spermatozoa sapi bali dengan nilai persentase 80,68% dan 85,53%. Perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui apakah larutan saline (NaCl) konsentrasi 0,8-1,0% dapat mempertahankan kondisi membran plasma spermatozoa pada ternak lain.

5. Daftar Pustaka

- [1] Solihati, N. dan P. Kune. 2009. Pengaruh Jenis Pengencer Terhadap Motilitas dan Daya Hidup Spermatozoa Semen Cair Sapi Simmental. Universitas Nusa Cendana.
- [2] Harsojuwono, B. A., I. W. Arnata, G. A. K. D. Puspawati. 2011. Rancangan Percobaan: Teori, Aplikasi SPSS dan Excel. Lintas Kata Publishing. Malang.
- [3] Arifiantini, R. I., T. Wresdiyanti, dan E. F. Retnani. 2006. Kaji Banding Morfometri Spermatozoa Sapi Bali (*Bos Sondaicus*) Menggunakan Perwarnaan Williams, Eosin, Eosin Nigrosin dan Formol Saline. *J.Sain Vet.* 24(1):65-70.
- [4] Feradis. 2010. Bioteknologi Reproduksi pada Ternak. Alfabeta: Bandung.
- [5] Gunawan, M., E. M. Kaiin dan R. Ridwan. 2017. Peningkatan Produktivitas Sapi Bali Melalui Inseminasi Buatan dengan Sperma Sexing di Techno Park Banyumulek, Nusa Tenggara Barat. Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Bogor. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon* 3(2):216-219.
- [6] Said S., B. Tappa, M. Gunawan, C. Arman. 2012. Conception Rates of Bali Cattle After Oestrus Synchronization with PGF2a and Artificial Insemination using Frozen-Thawed Sexed Semen. *Proceedings International Conference on Biotechnology 2012*. Bogor, 13-14 November 2012. Hal:33-40.
- [7] Waluyo, S. T. 2014. Reproduksi Aplikatif pada Sapi. PT SEWU (Srikandi Empat Widya Utama): Bandung
- [8] Salmah, N. 2014. Motilitas, Persentase Hidup dan Abnormalitas Spermatozoa Semen Beku Sapi Bali Pada Pengencer Andromed dan Tris Kuningtelur. Skripsi. Jurusan Produksi Ternak, Fakultas Peternakan. Universitas Hasanudin, Makassar
- [9] Arifiantini, R. I. 2012. Teknologi Koleksi dan Evaluasi Semen pada Hewan. Bogor: IPB Press
- [10] Kartasudjana, R. 2001. Teknik Inseminasi Buatan Pada Ternak. Jakarta: Departemen Pendidikan Nasional.

- [11] Anwar, P., Y. S. Odho dan D. Samsudewa. 2015. Kualitas Membran Plasma Utuh dan Tudung Akrosom Utuh Spermatozoa Sapi Bali Dipreservasi Suhu 5 C⁰ dalam Pengencer Ekstrak Air Tebu dengan Penambahan Kuning Telur. Universitas Diponegoro. *Agromedia* 33(1):53-63.
- [12] Garner, D. L. E. and E. S. E. Hafez. 2000. Spermatozoa and seminal plasma. dalam: Hafez B, Hafez ESE. *Reproduction in Farm Animals*, 7th ed. USA: Lippincott Williams and Wilkins Z:96 –109.
- [13] Sundari, T. W., T. R. Tagama dan Maidaswar. 2013. Korelasi Kadar pH Semen Segar Dengan Kualitas Semen Sapi Limousin di Balai Inseminasi Buatan. *Jurnal Ilmu Peternakan* 1(3):1043-1049.
- [14] Bardan, Feradis, dan T. Adelina. 2009. Penggunaan Air Tebu yang Dikombinasikan dengan Kuning Telur Sebagai Pengencer Semen Sapi Bali. *Jurnal Peternakan* 6(2) : 37-44.
- [15] Risal, M. 2009. Daya Tahan Spermatozoa Epididimis Sapi Bali yang Dipreservasi Pada Suhu 3-5 C⁰ dalam Pengencer Tris dengan Konsentrasi Laktosa yang Berbeda. *JITV* 14(2):142-149.
- [16] Kusdiantoro, M., B. Purwantara dan I. Djuwita. 2000. Evaluasi Fisiologi Semen dan Variasi Genetik Sapi Bali dalam Rangka Seleksi Pejantan Bibit Guna Menunjang Program Inseminasi Buatan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- [17] Kaiin E. M., B. Tappa, S. Said, F. Afiati, M. Gunawan, N. D. Yanthi. 2003. Aplikasi Bioteknologi untuk Produksi Bibit Sapi yang Sudah Diketahui Jenis Kelaminnya. Laporan Teknik Penelitian. Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI. Bogor.
- [18] Rizal, M. 2005. Fertilitas Spermatozoa Ejakulat Epididimis Domba Garut Hasil Kriopreservasi Menggunakan Modifikasi Pengencer Tris Dengan Berbagai Krioprotektan dan Antioksidan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- [19] Saili, T., M. R. Toelihere , A. Boediono, dan B. Tappa. 2000. Keefektifan albumin sebagai media pemisah spermatozoa sapi pembawa kromosom X dan Y. *Jurnal Hayati* 7(4):106 -109.
- [20] Arsiwan. 2014. Membran Plasma Utuh Sprmatozoa Epididimis Kambing Peranakan Ettawa dalam Natrium Klorida dengan Konsentrasi Berbeda. Skripsi. Fakultas Peternakan UHO. Kendari.