

PENGARUH PERBANDINGAN KUNING TELUR DAN AIR KELAPA TERHADAP DAYA TAHAN HIDUP (VIABILITAS) SPERMATOZOA SAPI HASIL PEMISAHAN

Afiati, F.¹⁾, B. Tappa¹⁾ & Djuarsawidjaja²⁾

¹⁾ Lab. Reproduksi dan Genetika Ternak, Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI

²⁾ Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Djuanda, Bogor

(Diterima 22-10-2003; disetujui 16-12-2003)

ABSTRACT

Egg yolk and the coconut milk has been tested as the semen dilution to the cow spermatozoid viability that has been segregated with the comparison between the egg yolk and the coconut milk as much as 1:3; 1:4; 1:5; or 1:6. The storage while monitoring is doing in the temperature from 2 - 5°C. The viability of X and Y sperm could last until 9th day, despite the motility degradation. The percentage of X sperm motility that has been diluted with the KT-AK point 1:4 (71.67%) on H-1 showed the significant differences ($P > 0.05$) compared with the consecutive KT-AK dilutions that are 1:6 (65.00%); 1:3 (65.83%) and 1:5 (70.00%), but there are not so significant on ($P < 0.05$) from H-2 to H-9. There are no significant differences between the Y sperm motility that diluted with KT-AK 1:3 (62.50%); 1:4 (71.67%); 1:5 (68.33%); or 1:6 (65.00%) on H-1 until H-9. There are significant differences on ($P > 0.05$) to the complete plasma membrane (CPM) of the X sperm between the KT-AK from 1:3 (88.40%); 1:4 (81.32%); 1:5 (76.67%) or 1:6 (74.52%) and the Y sperm KT-AK points between KT-AK from 1:3 (79.92%); 1:4 (74.99%); 1:5 (73.04%) or 1:6 (71.90%). The abnormalities of the X sperm have no difference of ($P < 0.05$) between each treatment, the significant difference of ($P > 0.05$) lies on the abnormality of the Y sperm between the KT-AK of 1:3 (8.81%); 1:4 (8.36%); 1:5 (9.06%) and 1:6 (9.07%). The egg yolk and the coconut milk can be used as semen dilution when maintaining the spermatozoid viability that has segregated with the albumen.

Key words: egg yolk, coconut milk, viability, spermatozoid, complete plasma membrane.

PENDAHULUAN

Pengenceran semen digunakan untuk mempertahankan kondisi semen yang berada di luar tubuh ternak yang memperbanyak volume semen untuk keperluan inseminasi. Unsur-unsur pembentuk pengencer harus berfungsi sebagai sumber energi, pelindung terhadap kecaman dingin (*cold shock*), mencegah adanya perubahan pH, mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit, mencegah pertumbuhan kuman serta memperbanyak volume semen (Toelihere, 1993). Spermatozoa tidak dapat hidup untuk waktu lama kecuali bila ditambahkan berbagai unsure ke dalam semen. Bahan pengencer atau pengawet tersebut harus mengandung bahan makanan bagi spermatozoa dan mengandung unsur-unsur penyangga untuk mempertahankan pH semen (Hunter, 1995; Toelihere, 2001).

Penggunaan air kelapa sebagai pengencer semen sapi telah dilakukan oleh Botassoma pada tahun 1973 (Rusliansyah, 1984). Air kelapa memiliki cukup banyak karbohidrat (fruktosa, glukosa dan sukrosa) yang dapat dimanfaatkan oleh spermatozoa sebagai sumber energi, yaitu masing-masing 4,11% - 7,27%, namun tanpa didukung bahan penyangga yang baik keadaan ini justru mempercepat kematian spermatozoa (Tanuwidjaja, 1992), selain itu air kelapa dapat digunakan sebagai pengganti elektrolit dalam mempertahankan keseimbangan osmotik (Salisbury &

Van Demark, 1985) dan mempertahankan motilitas spermatozoa serta sumber energi untuk memenuhi kebutuhan spermatozoa dalam pelaksanaan aktivitasnya (Lake, 1971 dalam Qomariyah, 2000). Sedangkan menurut Toelihere (1993) air kelapa hanya mengandung karbohidrat sebagai bahan makanan spermatozoa dan hanya bersifat sebagai penyangga sehingga tidak mampu melindungi spermatozoa dari temperatur rendah, oleh karena itu perlu ditambah kuning telur dan zat lain.

Kuning telur ayam merupakan bahan pengencer semen yang relatif mudah didapat. Kuning telur mengandung 0,2% glukosa (Purnomo & Adiono, 1985), bermacam-macam vitamin dan protein yang larut dalam air dan lemak serta indek viskositas yang menguntungkan bagi kehidupan spermatozoa (Salisbury & Van Demark, 1985). Kuning telur mengandung lipoprotein dan lesitin yang bekerja dalam mempertahankan dan melindungi integritas selubung lipoprotein dari sel spermatozoa. Semen yang disimpan dalam temperatur rendah tanpa adanya bahan pelindung akan mengalami *cold shock*. Kuning telur dapat melindungi spermatozoa dari *cold shock* karena mengandung lipoprotein sel spermatozoa (Toelihere, 1993), tetapi telur yang digunakan sebaiknya berumur tidak lebih dari 4 - 5 hari (Evans & Maxwell, 1987).

MATERI DAN METODE

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah semen sapi Peranakan Ongole (PO), bagian cair putih telur (albumen), kuning telur, medium Brackett-Oliphant (1975), air kelapa, eosin 2%, phenol red, penisilin, streptomisin, minyak imersi, alkohol 70%, aquabidest dan lain-lain.

Alat yang digunakan adalah seperangkat alat vagina buatan, tabung pemisah spermatozoa, tabung sentrifus, gelas ukur, gelas erlenmeyer, gelas beaker, gelas objek, gelas penutup, pipet Pasteur, hemasitometer, sentrifus, mikroskop, kertas lakmus, pemanas Bunsen, timbangan elektronik, rak tabung, water bath, magnetic steerer, counter dan lain-lain.

Metode Penelitian

Penyiapan Spermatozoa

Semen sapi tampung menggunakan vagina buatan, kemudian dibawa ke laboratorium untuk dievaluasi secara mikroskopis (volume, warna, bau, pH dan kekentalan) dan mikroskopis (gerakan massa, persentase motilitas, konsentrasi, persentase abnormalitas dan persentase hidup mati) (Toelihere, 2001). Setelah pengenceran evaluasi meliputi persentase motilitas, MPU dan abnormalitas.

Pemisahan Spermatozoa

Semen sapi yang ditampung (ejakulat) dicuci dengan penambahan medium BO dan disentrifugasi pada kecepatan 2500 rpm selama 10 menit. Medium BO ditambahkan kembali pada endapan spermatozoa sampai konsentrasi menjadi 150 juta sel per mililiter.

Satu mililiter sample dimasukkan ke dalam tabung yang telah berisi kolom albumen bertingkat 10% dan 30%, kemudian dibiarkan selama satu jam pada suhu 28°C. Setiap fraksi semen discedot menggunakan pipet dan ditampung dalam tabung sentrifus, kemudian dicuci menggunakan medium BO dengan sentrifugasi pada kecepatan 2500 rpm selama 10 menit. Sampel siap diencerkan.

Pengenceran Semen

Semen yang dihasilkan dari masing-masing fraksi diencerkan dengan pengencer kuning telur dan air kelapa dengan perbandingan 1:3, 1:4, 1:5 dan 1:6. Kemudian sample disimpan dalam lemari pendingin suhu 2-5°C dan dilakukan pengamatan setiap 24 jam. Persiapan larutan pengencer dilakukan menurut Toelihere *et al.*, (1997) dalam Rusliansyah (1984).

Rancangan Percobaan

Penelitian dilakukan dengan metode eksperimental menggunakan rancangan percobaan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima perlakuan, masing-masing perlakuan mendapat enam ulangan. Perbandingan Nilai Tengah Perlakuan dilakukan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) (Matjik & Sumertajaya, 2000).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Motilitas

Rata-rata motilitas spermatozoa X yang disimpan dalam temperatur 5°C yang diencerkan dengan kuning telur dan air kelapa dalam setiap perbandingan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Mortalitas spermatozoa X pada berbagai pengenceran (%)

| Perlakuan | Pengamatan hari ke - | | | | | | | | |
|-----------|----------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | H-1 | H-2 ^{tn} | H-3 ^{tn} | H-4 ^{tn} | H-5 ^{tn} | H-6 ^{tn} | H-7 ^{tn} | H-8 ^{tn} | H-9 ^{tn} |
| X 1:3 | 65,83 ^{a,b} | 58,75 | 44,17 | 25,83 | 23,33 | 20,00 | 10,83 | 5,83 | 2,50 |
| X 1:4 | 71,67 ^b | 66,25 | 50,83 | 30,00 | 29,17 | 24,17 | 15,42 | 5,83 | 2,50 |
| X 1:5 | 70,00 ^{a,b} | 60,00 | 45,83 | 28,33 | 27,50 | 20,00 | 11,67 | 5,83 | 2,50 |
| X 1:6 | 65,00 ^a | 56,95 | 41,67 | 26,67 | 24,17 | 22,50 | 11,67 | 5,83 | 2,50 |

Keterangan : Angka diikuti huruf superskrip yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata (P<0,05)

Catatan : X = Spermatozoa X
 1:z = Kuning telur : Air Kelapa
 tn = Tidak berbeda nyata

Viabilitas spermatozoa X yang diencerkan dengan kuning telur dan air kelapa pada setiap perbandingan hanya sampai pada hari ke-9 dengan persentase motilitas yang semakin menurun. Persentase motilitas spermatozoa X yang diencerkan dengan KT-AK 1:4 pada H-1 menunjukkan perbedaan yang nyata taraf 5% dibanding pengenceran KT-AK berturut-turut 1:6; 1:3; 1:5, tetapi tidak berbeda nyata pada H-2 sampai H-9, karena menurut Toelihere (1993) derajat pengenceran yang terlampau tinggi dapat menyebabkan rendahnya motilitas yang

menyebabkan sejumlah zat dari spermatozoa menjadi hilang dan jumlah plasma semen dalam medium menjadi sedikit meskipun medium tersebut dalam keadaan yang optimal, diungkapkan juga bahwa perbandingan terbaik untuk campuran kuning telur-penyangguh pada semen sapi adalah 1:4.

Rata-rata motilitas spermatozoa Y yang disimpan dalam temperatur 5°C yang diencerkan dengan kuning telur dan air kelapa dalam setiap perbandingan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Motilitas spermatozoa Y pada berbagai pengenceran (%)

| Perlakuan | Pengamatan hari ke - | | | | | | | | |
|-----------|----------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | H-1 | H-2 ^{tn} | H-3 ^{tn} | H-4 ^{tn} | H-5 ^{tn} | H-6 ^{tn} | H-7 ^{tn} | H-8 ^{tn} | H-9 ^{tn} |
| X 1:3 | 62,50 | 57,92 | 41,67 | 26,67 | 22,50 | 22,50 | 12,5 | 5,83 | 2,50 |
| X 1:4 | 71,67 | 67,08 | 49,17 | 30,83 | 30,00 | 25,00 | 15,00 | 5,83 | 2,50 |
| X 1:5 | 68,33 | 61,25 | 45,00 | 29,17 | 25,83 | 21,67 | 12,50 | 5,83 | 2,50 |
| X 1:6 | 65,00 | 55,42 | 37,08 | 24,17 | 21,67 | 16,67 | 11,67 | 5,83 | 2,50 |

Catatan: Y = Spermatozoa Y

1:z = Kuning telur : air kelapa

tn = Tidak berbeda nyata ($P < 0,05$)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan pada setiap perlakuan terhadap motilitas spermatozoa Y yang disimpan pada temperatur 5°C, dari H-1 sampai H-9 tetapi motilitas yang dapat memenuhi syarat untuk kegiatan inseminasi hanya sampai hari ke tiga, hal ini sesuai dengan pendapat Partodihardjo (1992) dan Umiyasih *et al.*, (1993) yang menyatakan bahwa semen dengan motilitas kurang dari 40% memiliki angka konsepsi yang rendah. Seperti hasil penelitian Qomariyah (2000) yang menunjukkan bahwa daya tahan hidup spermatozoa domba sampai motilitas 40% mampu bertahan sampai 79 jam. Rusliansyah (1984) mengemukakan bahwa untuk kegiatan inseminasi, semen yang diencerkan dengan kuning telur dan air kelapa sebaiknya tidak digunakan bila sudah lebih dari 3 hari.

Persentase motilitas spermatozoa X dan Y pada setiap hari amatan menunjukkan nilai yang semakin menurun, hal ini terjadi karena keterbatasan energi di dalam larutan pengencer mempengaruhi daya gerak maju spermatozoa. Glikolisis dan respirasi yang merupakan prinsip metabolisme sperma berhubungan

dengan tinggi rendahnya derajat proses tersebut, hal ini tergantung pada tingkat kepadatan atau jumlah dan derajat pergerakan spermatozoa (Hafez, 1993). Selain itu Cole & Cupps (1977) dalam Rusliansyah (1984) mengemukakan bahwa faktor-faktor luar yang mempengaruhi metabolisme spermatozoa meliputi substrat yang berbeda-beda, meliputi keadaan spermatozoa di dalam alat kelamin betina, konsentrasi spermatozoa, krapatan O₂, dan gas CO₂, konsentrasi ion dan efek cahaya. Apabila sumber cadangan energi lain telah habis, spermatozoa akan menggunakan cadangan energi yang terdapat dalam plasmalogen yang diuraikan terlebih dahulu oleh O₂ dan asam lemak yang dibebaskan akan dioksidasi menjadi CO₂ (Hafez, 1993).

Membran Plasma Utuh (MPU)

Rata-rata persentase membran plasma utuh spermatozoa hasil pemisahan yang disimpan pada temperatur 5°C dan diencerkan dengan kuning telur-air kelapa dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. MPU spermatozoa hasil pemisahan pada berbagai pengenceran (%)

| Pengamatan Perlakuan | Spermatozoa X | | Spermatozoa Y | |
|-------------------------|----------------------|----------------------|--------------------|----------------------|
| | H-1 | H3 | H-1 | H-3 |
| KT:AK 1:3 | 88,40 ^c | 45,35 ^c | 79,92 ^b | 42,73 ^c |
| KT:AK 1:4 | 81,32 ^{a,b} | 42,14 ^{b,c} | 74,99 ^a | 37,77 ^{a,b} |
| KT:AK 1:5 | 76,67 ^{a,b} | 37,58 ^{a,b} | 73,04 ^a | 38,48 ^{b,c} |
| KT:AK 1:6 | 74,52 ^a | 33,79 ^a | 71,90 ^a | 33,03 ^a |

Keterangan: Angka diikuti huruf superskrip yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata (P>0,05)

Catatan : H-n = Pengamatan pada hari ke-n; KT:AK = Kuning telur : Air Kelapa

Pada Tabel 3. dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan antar perlakuan, yang semakin tinggi kandungan kuning telur dalam pengencer yang berarti semakin rendah kandungan air kelapa menunjukkan nilai membran plasma utuh pada spermatozoa hasil pemisahan semakin besar. Hal ini dapat dipahami, karena air kelapa hanya berfungsi sebagai sumber bahan makanan, tetapi tidak dapat mempertahankan spermatozoa terhadap efek cold shock, karena menurut Toelihere (1993) dalam kuning telur terdapat substansi lipoprotein dan lesitin yang dapat melindungi spermatozoa terhadap efek cold shock, selain sebagai penyumbang zat makanan, seperti lemak, karbohidrat, glukosa, bermacam-macam protein, vitamin dan indeks viskositas yang menguntungkan bagi spermatozoa. Penambahan kuning telur ke dalam pengencer semen akan meningkatkan kandungan fosfolipid yang terdapat dalam lipoprotein membran plasma spermatozoa, sehingga terjadi peningkatan Low Density Lipoprotein Fraction (LDF), yaitu bagian dari fosfolipid yang aktif melindungi membran plasma

spermatozoa yang disimpan pada temperatur 5°C (Watson, 1981 dalam Qomariyah, 2000).

Nilai membran plasma utuh pada spermatozoa X menunjukkan nilai yang lebih tinggi dibanding nilai membran plasma utuh pada spermatozoa Y, hal ini terjadi karena spermatozoa Y dalam proses pemisahan melalui konsentrasi albumen yang lebih tinggi (30%) dibanding spermatozoa X dengan konsentrasi albumen 10%. Hal ini sesuai dengan pendapat Sali (1999) yang menyatakan bahwa penurunan nilai persentase membran plasma utuh terjadi secara bertahap, tetapi kerusakan pada proses pemisahan lebih disebabkan oleh faktor kimiawi, karena protein dalam albumen mempunyai kemampuan yang kuat untuk mengikat kolesterol dan ion zinkum yang berfungsi menstabilkan membran plasma spermatozoa.

Abnormalitas

Rata-rata persentase abnormalitas spermatozoa sapi hasil pemisahan yang disimpan pada temperatur 5°C dan diencerkan dengan kuning telur-air kelapa dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Abnormalitas spermatozoa hasil pemisahan pada berbagai pengenceran (%)

| Pengamatan Perlakuan | Spermatozoa X | | Spermatozoa Y | |
|-------------------------|-------------------|------------------|---------------------|-------------------|
| | H-1 ^{tn} | H3 ^{tn} | H-1 ^{tn} | H-3 ^{tn} |
| KT:AK 1:3 | 6,67 | 15,72 | 8,81 ^a | 18,13 |
| KT:AK 1:4 | 7,27 | 16,11 | 8,36 ^{a,b} | 18,47 |
| KT:AK 1:5 | 7,61 | 16,11 | 9,06 ^b | 18,63 |
| KT:AK 1:6 | 7,71 | 16,13 | 9,07 ^b | 18,76 |

Keterangan : Angka diikuti huruf superskrip yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata (P>0,05)

Catatan : H-n = Pengamatan pada hari ke-n

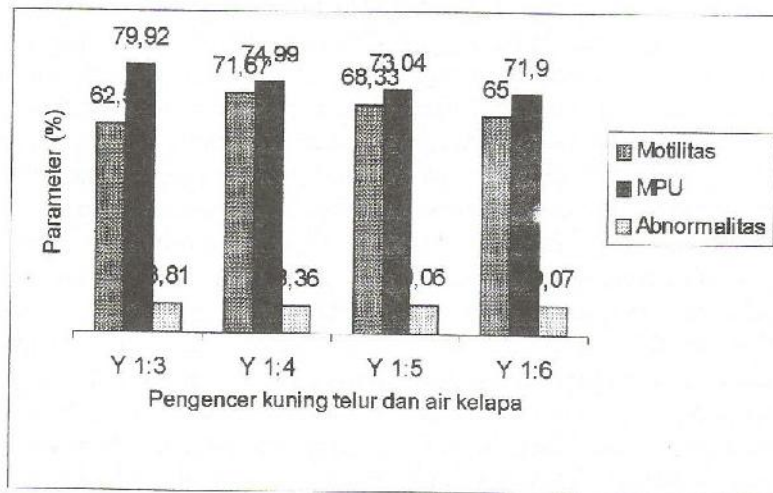
tn = Tidak berbeda nyata

KT:AK = Kuning telur : Air Kelapa

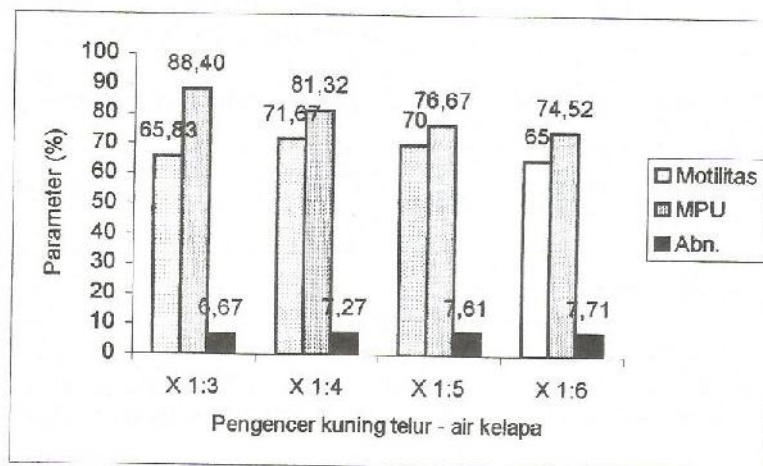
Data yang ditampilkan pada Tabel 4. menunjukkan bahwa kombinasi kuning telur dengan air kelapa tidak mempengaruhi tingkat abnormalitas, baik untuk spermatozoa X ataupun spermatozoa Y, karena abnormalitas hasil penelitian masih dibawah 20%. Tidak terdapat perbedaan pada persentase abnormalitas spermatozoa X yang diencerkan dengan berbagai perbandingan kuning telur dan air kelapa, baik pada hari ke-1 ataupun ke-3. Hasil pengamatan hari pertama spermatozoa Y menunjukkan perbedaan

persentase abnormalitas, dimana abnormalitas terendah diperoleh pada pengenceran KT-AK 1:4, kemudian perbandingan KT-AK 1:3, 1:5 dan 1:6, tetapi tidak terdapat perbedaan pada persentase abnormalitas hari ke-3.

Secara keseluruhan rata-rata persentase motilitas, keutuhan membran plasma dan abnormalitas spermatozoa hasil pemisahan dapat dilihat pada Gambar 1 dan Gambar 2.



Gambar 1. Histogram parameter spermatozoa Y



Gambar 2. Histogram parameter spermatozoa X

KESIMPULAN

1. Kuning telur dan air kelapa dapat digunakan sebagai pengencer semen dalam mempertahankan viabilitas spermatozoa yang telah dipisahkan dengan albumen.
2. Viabilitas spermatozoa X dan spermatozoa Y yang diencerkan dengan kuning telur dan air kelapa dan disimpan dalam suhu 5°C terus menurun sampai hari kesembilan.
3. Perbandingan kuning telur dan air kelapa yang paling baik terhadap parameter spermatozoa X dan spermatozoa Y pada keutuhan membran plasma adalah 1:3, sedangkan pada motilitas adalah 1:4.

DAFTAR PUSTAKA

- Bracket, B.G. & G. Oliphant. 1975. Capacitation of rabbit spermatozoa in vitro. *Biologi of reproduction* (12):260-274
- Evans, G. & W.M.C. Maxwell. 1987. *Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats*. Butterworths Pty Limited. Australia.
- Hafez, E.S.E. 1993. *Reproduction in farm animals*. 6th ed. Lea and Febiger. Philadelphia.
- Hunter, R.H.F. 1995. *Fisiologi dan teknologi reproduksi hewan betina domestik*. Penerbit ITB dan Penerbit Udayana.
- Mattjik, A.A. & Sumertajaya. 2000. *Perancangan percobaan dengan aplikasi SAS dan minitab*. Jilid I. IPB Press. Bogor
- Partodihardjo. 1992. *Ilmu reproduksi hewan*. Mutiara Widya. Cetakan ke-3. Jakarta
- Purnomo, H. & Adiono. 1985. *Ilmu Pangan*. UI Press. Mutiara Widya. Jakarta
- Qomariyah. 2000. Pengaruh kombinasi kuning telur dan air kelapa terhadap daya tahan hidup dan abnormalitas spermatozoa domba priangan pada penyimpanan 5°C. *Skripsi*. Fakultas Peternakan. Universitas Padjajaran. Sumedang.
- Rusliansyah. 1984. Penggunaan air kelapa sebagai pengencer semen pada ternak. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor.
- Saili, T. 1999. Efektivitas penggunaan albumen sebagai medium separasi dalam upaya mengubah rasio alamiah spermatozoa pembawa kromosom X dan Y pada sapi. *Tesis*. Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Salisbury, G.W. & N.L. Vandemark. 1985. *Fisiologi reproduksi dan inseminasi buatan pada sapi*. Terjemahan: R. Djanuar. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta
- Tanuwidjaja, A. 1992. Perbandingan daya tahan hidup semen bison (*Bison bonasus*) dalam pengencer sitrat kuning telur, air susu dan air kelapa kuning telur. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor.
- Toelihere, M.R. 1993. *Inseminasi buatan pada ternak*. Angkasa. Bandung.
- Toelihere, M.R. 2001. Prosesing dan pembekuan semen serta pemanfaatan semen beku. *Pelatihan Transfer Embrio dan prosesing sperma*. Proyek Penelitian Bioteknologi LIPI. Cibinong.
- Umiyasih, U., N.K. Wardhani & D.B. Wigono. 1993. *Kualitas semen calon pejantan sapi madura terpilih*. *Prosiding Pertemuan Pembahasan Hasil Penelitian Seleksi sapi Madura*. Sub Balai Penelitian Ternak Grati. Proyek Pembangunan Penelitian Pertanian. Nasional. Malang. Hal. 125-134.