

**KUALITAS SPEMATOZOA SEMEN SAPI ANGUS (*Bos taurus*) DALAM PENGECER TRIS KUNING TELUR DENGAN SUBSTITUSI SUSU KACANG KEDELAI**

***Quality Of Spermatozoa Of Angus (*Bos taurus*) Spermatozoa In Egg Yellow Tris Dilution With Soybean Milk Substitution***

Kristiani Agustina Bayung<sup>1</sup>, Sipora Petronela Telnoni<sup>2</sup>, Mery Fahik<sup>3</sup>

Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas San Pedro, Kupang,<sup>123</sup>

[siporatelnoni@yahoo.co.id](mailto:siporatelnoni@yahoo.co.id)

**Abstrak**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kualitas spermatozoa sapi Angus (*Bos taurus*) terhadap motilitas, viabilitas, dan abnormalitas dalam pengencer tris kuning telur (TKT) dengan substitusi susu kacang kedelai (SKD) pada konsentrasi Semen segar ditampung dari sapi Angus umur 4 tahun menggunakan metode vagina buatan, semen dievaluasi secara makroskopis terhadap volume, warna, konsistensi, dan pH dan mikroskopis terhadap gerakan massa, motilitas, viabilitas, abnormalitas, dan konsentrasi. Motilitas spermatozoa semen segar >70% diencerkan ke dalam 4 perlakuan P0: TKT (3 mL), P1: TKT (2 mL) + SKD (1 mL), P2: TKT (1,5 mL) + SKD (1.5 mL), P3: TKT (1 mL) + SKD (2 mL) dan P4: TKT (0 mL) + SKD (3 mL). Semen dievaluasi setelah pengenceran kemudian semen disimpan di dalam lemari pendingin dengan suhu 20 °C, evaluasi dilakukan setiap 24 jam. Data hasil penelitian dianalisis berupa motilitas, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa dianalisis menggunakan *analysis of variance*. Hasil penelitian menunjukkan spermatozoa sapi Angus (*Bos taurus*) tertinggi terdapat nilai rerata persentase motilitas spermatozoa tertinggi terdapat pada P2 dengan nilai (42.98±16.62%), nilai rerata viabilitas spermatozoa tertinggi terdapat pada P2 (58.67±14.16%), dan nilai rerata abnormalitas tertinggi terdapat pada P2 (7.34±0.37%). Berdasarkan hasil TKT dan SKD yang digunakan dapat mempertahankan konfigurasi normal bentuk spermatozoa sehingga dapat meminimalisir persentase abnormalitas. Spermatozoa tidak dapat bertahan lama karena semakin tinggi konsentrasi pengencer yang digunakan maka semakin menurun kualitas spermatozoa.

**Kata Kunci:** *Tris kuning telur, Susu kacang kedelai, Motilitas, Viabilitas, Abnormalitas*

**Abstract**

*The aim of this study was to determine the quality of the angus bull sperm (*Bos taurus*) on motility, viability, and abnormalities in egg yolk tris diluent (TKT) with soy milk substitution at concentrations of fresh semen collected from Angus cattle aged 4 years using the artificial vagina method, semen evaluated macroscopically for volume, color, consistency, and pH and*

*microscopically for mass movement, motility, viability, abnormality, and concentration. Motility of fresh semen spermatozoa >70% diluted into 4 treatments P0: TKT (3 mL), P1: TKT (2 mL) + SKD (1 mL), P2: TKT (1.5 mL) + SKD (1.5 mL), P3: TKT (1 mL) + SKD (2 mL) and P4: TKT (0 mL) + SKD (3 mL). Semen is evaluated after dilution then semen is stored in a refrigerator with a temperature of 20 °C, evaluation is carried out every 24 hours. The research data were analyzed in the form of motility, viability, and spermatozoa abnormalities were analyzed using analysis of variance. The results showed that the highest sperm motility percentage of Angus cattle (*Bos taurus*) was found in P2 with a value of  $(42.98 \pm 16.62\%)$ , the highest mean value of spermatozoa viability was in P2  $(58.67 \pm 14.16\%)$ , and the highest mean abnormality value found in P2  $(7.34 \pm 0.37\%)$ . Based on the results of TKT and SKD used to maintain the normal configuration of spermatozoa shape so as to minimize the percentage of abnormalities. Spermatozoa cannot last long because the higher the concentration of diluent used, the lower the quality of the spermatozoa.*

**Keywords:** *Tris egg yolk, Soybean milk, Motility, Viability, Abnormality*

## **PENDAHULUAN**

Kajian teknologi dibidang ilmu biologi reproduksi dalam upaya peningkatan produksi dan perbaikan genetik ternak melalui pemanfaatan pejantan unggul dapat dilakukan melalui penggunaan semen spesies hewan salah satunya adalah sapi. Semen sapi sebagai hasil sekresi organ primer reproduksi jantan (testis) mengandung jumlah spermatozoa yang tinggi per ejakulasi. Jumlah sel spermatozoa per ejakulasi pada sapi adalah  $800-1200 \times 10^6$  sel/mL (Hafez & Hafez, 2016), jumlah sel spermatozoa yang tinggi per ejakulasi dapat dimanfaatkan dalam meningkatkan produksi ternak dan perbaikan mutu genetik khusus sapi Angus (*Bos taurus*) melalui aplikasi inseminasi buatan (IB). Penggunaan IB sebagai sarana perbaikan genetik berasal dari adanya jumlah semen per ejakulasi yang dapat dibagi menjadi beberapa dosis inseminasi, sehingga masing-masing pejantan dapat berpotensi digunakan untuk menginseminasi betina dalam jumlah yang banyak (Parkinson & Morrell, 2019).

IB pada sapi Angus (*Bos taurus*) memerlukan semen yang berkualitas baik dengan kriteria dapat disimpan dalam waktu lama dan disalurkan bagi pelayanan IB masyarakat peternak sapi di wilayah berbeda. Hal ini mendukung adanya perkawinan antara spesies dan jenis sapi khususnya sapi Angus (*Bos taurus*) dengan tujuan perbaikan mutu genetik dan peningkatan produksi. Melalui teknologi IB dimungkinkan adanya perkawinan antara pejantan unggul yang terdapat disuatu daerah dengan betina yang ada didaerah lain (Toelihere, 1993; Ardana & Putra, 2008). Keberhasilan pelaksanaan IB memerlukan kualitas semen cair yang diperoleh dari semen segar setelah ditambahkan bahan pengencer dan disimpan. Semen segar tidak bertahan lama dalam penyimpanan in vitro, bahkan hanya bertahan  $\pm 3-4$  jam (Blakely & Bade, 1992). Oleh karena itu perlu dilakukan penyimpanan agar kualitas semen segar tetap dipertahankan dalam kurun waktu

yang relatif lama yaitu lebih dari 24 jam bagi tujuan aplikasi IB (Beaulieu *et al.*, 2005 dan O'Hara *et al.*, 2010).

Pengencer tris kuning telur (TKT) merupakan bahan pengencer dasar yang digunakan dalam penyimpanan semen mamalia khususnya semen cair sapi. Kuning telur adalah bahan pengencer semen spesies mamalia dalam fungsi melindungi spermatozoa dari *cold shock* (Anzar *et al.*, 2019). Tris (tris aminomethane) berfungsi sebagai buffer yang berperan dalam menyeimbangkan pH semen, asam sitrat dan fruktosa sebagai bahan energi, untuk mencegah perubahan pH akibat asam laktat serta mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit, kuning telur sebagai sumber energi dan melindungi spermatozoa dari *cold shock* (Widjaya, 2011).

Susu kacang kedelai (SKD) merupakan salah satu bahan pengencer asal tumbuhan yang mengandung lesitin dan berfungsi dalam preservasi semen berbagai jenis hewan mamalia termasuk sapi. Lesitin sumber kedelai mengandung suatu fraksi fosfolipid yang dapat menggantikan lipoprotein dengan berat molekul tinggi dan dalam mencegah atau memperbaiki kerusakan pada membran plasma spermatozoa yang terjadi selama preservasi dan kriopreservasi. (Layek *et al.*, 2016). Berdasarkan latar belakang tersebut maka dilakukan penelitian ini dengan tujuan untuk mengetahui "Kualitas Spermatozoa Semen Sapi Angus (*Bos taurus*) dalam Pengencer Tris Kuning Telur dengan Substitusi Susu Kacang Kedelai".

## **METODE PENELITIAN**

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Reproduksi milik Yayasan Williams dan Laura yang berlokasi di Desa Oelnasi, Kecamatan Kupang Tengah, Kabupaten Kupang Nusa Tenggara Timur. Penelitian dilaksanakan selama Oktober-Desember 2021. Pelaksanaan penampungan semen dilakukan pada pagi hari, dengan menyiapkan vagina buatan dan air hangat (37-39 °C). Air hangat dimasukkan dalam vagina buatan. Sapi jantan Angus ditempatkan pada kandang penampungan/kandang jepit, sapi diberikan waktu untuk exercise, penis sapi dimasukkan kedalam vagina buatan, selanjutnya didapatkan semen hasil ejakulasi ditampung dan kemudian dibawa masuk ke laboratorium untuk pemeriksaan makroskopis, mikroskopis, pengenceran, dan penyimpanan. Selanjutnya dilakukan evaluasi semen segar yang ditampung dan melakukan valuasi secara makroskopis dan mikroskopis menggunakan mikroskop elektron perbesaran 10 X 10 kali yang meliputi: volume, bau, semen, warna, pH, Kekentalan, Gerakan Massa, Spermatozoa, konsentrasi spermatozoa (Sel/mL), motilitas spermatozoa (%), viabilitas spermatozoa (%) dan abnormalitas spermatozoa (%). Semen yang sudah dievaluasi secara makroskopis dan mikroskopis serta memenuhi kriteria maka semen segar yang dinyatakan layak untuk pengenceran. Pengenceran dibagi kedalam 4 tabung perlakuan P0: TKT (3 mL), P1: TKT (2 mL) + SKD (1 mL), P2: TKT (1,5 mL) + SKD (1.5 mL), P3: TKT (1 mL) + SKD (2 mL) dan P4: TKT (0 mL) +

SKD (3 mL). Masing-masing tabung perlakuan berisi 3 mL bahan pengencer (TKT dan atau SKD), ditambahkan 0.3 mL semen dan dihomogenkan. Semen dievaluasi setelah pengenceran kemudian semen disimpan di dalam lemari pendingin dengan suhu 20 °C, evaluasi dilakukan setiap 24 jam untuk pengamatan % motilitas spermatozoa, % viabilitas spermatozoa, dan % abnormalitas spermatozoa.

#### **Analisis Data**

Data kualitatif meliputi volume, warna, konsistensi, dan pH semen dianalisis secara deskriptif. Data kuantitatif meliputi gerakan massa, motilitas, viabilitas, konsentrasi, dan morfologi spermatozoa dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA). Bila terdapat perbedaan dilakukan uji lanjut menggunakan uji Duncan dengan selang kepercayaan 95%.

#### **PEMBAHASAN**

##### **Motilitas spermatozoa, viabilitas spermatozoa dan abnormalitas spermatozoa**

Evaluasi semen cair Sapi Angus setelah di tambahkan dengan pengencer TKT dengan substitusi SKD yang diamati secara mikroskopis untuk pemeriksaan motilitas, viabilitas dan abnormalitas dapat dilihat pada hasil penelitian Tabel 1.

**Tabel. 1.** Kualitas Spermatozoa Sapi Angus (*Bos taurus*) dalam Pengencer TKT dengan Substitusi SKD pada Level Konsentrasi Berbeda pada 5 Hari

Perlakuan	Pengencer TKT+%SKD	Spermatozoa (Rerata±SD)		
		% Motilitas	% Viabilitas	% Abnormalitas
P0	0 mL	36.27±20.79 <sup>b</sup>	52.70±19.29 <sup>b</sup>	7.15±0.49 <sup>a</sup>
P1	1 mL	39.42±18.54 <sup>b</sup>	53.51±18.94 <sup>b</sup>	7.06±0.64 <sup>a</sup>
P2	1.5 mL	42.98±16.62 <sup>c</sup>	58.67±14.16 <sup>c</sup>	7.34±0.37 <sup>a</sup>
P3	2 mL	38.69±17.66 <sup>b</sup>	52.97±17.65 <sup>b</sup>	6.97±0.56 <sup>a</sup>
P4	3 mL	20.74±24.39 <sup>a</sup>	35.69±25.35 <sup>a</sup>	7.17±0.56 <sup>a</sup>

SD: Standard Deviasi

Berdasarkan Tabel 1 dapat dilihat bahwa nilai rerata persentase motilitas spermatozoa, tertinggi terdapat pada P2 dengan nilai (42.98±16.62%) dan sangat berbeda nyata ( $P<0.05$ ) terhadap P4 (20.74±24.39%), dan berbeda terhadap P1 (39.42±18.54%), P3 (38.69±17.66%), dan P0 (36.27±20.79%). Nilai motilitas spermatozoa hasil penelitian yang sangat rendah pada P4 dapat disebabkan oleh adanya kombinasi konsentrasi substitusi SKD yang tinggi sehingga memengaruhi aktivitas pergerakan spermatozoa. Konsentrasi SDK yang tinggi berhubungan dengan molekul-molekul besar berupa lemak SKD sehingga memengaruhi pergerakan spermatozoa. Yumashiro *et al.*, (2006) menyatakan bahwa molekul-molekul besar tidak dapat menembus membran sel spermatozoa yang berfungsi

untuk melindungi dan mempertahankan integrasi lipoprotein penyusun membran spermatozoa sedangkan menurut Rahayu *et al.*, (2014) saat konsentrasi SKD dinaikkan maka akan memiliki efek negatif terhadap kualitas spermatozoa. Motilitas spermatozoa akan menurun ketika konsentrasi lesitin pada pengencer lebih tinggi dan tingginya konsentrasi susu kedelai mengakibatkan banyaknya gumpalan susu kedelai pada medium sehingga mempengaruhi pergerakan spermatozoa. Nilai motilitas yang baik ini berhubungan dengan adanya kandungan lesitin. Lesitin berfungsi sebagai anti *cold shock* yang mampu mempertahankan bentuk normal spermatozoa dan berpengaruh terhadap pergerakan spermatozoa. Pamungkas dan Anwar (2013) menyatakan bahwa anti *cold shock* perlu ditambahkan agar dapat melindungi spermatozoa pada saat perubahan suhu dalam melindungi phospholipid membrane plasma dalam penyimpanan dingin dan penyimpan beku (Moussa *et al.*, 2002; Andrabi *et al.*, 2008) yang akan berpengaruh terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa. Integritas membrane plasma memberikan pengaruh penting bagi motilitas dan viabilitas sel juga dalam kaitannya terhadap kemampuan fertilisasi (Mehmood *et al.*, 2009).

Nilai rerata viabilitas spermatozoa tertinggi terdapat pada P2 ( $58.67 \pm 14.16\%$ ) sangat berbeda nyata ( $P < 0.05$ ) terhadap P4 ( $35.69 \pm 25.35\%$ ) dan berbeda pada P1 ( $52.70 \pm 19.29\%$ ), P3 ( $52.97 \pm 17.65\%$ ), dan P0 ( $52.70 \pm 19.29\%$ ). Tingginya nilai viabilitas spermatozoa pada pengencer yang menggunakan konsentrasi TKT dan substitusi SKD yang seimbang pada P2 disebabkan oleh adanya kandungan lipoprotein dan phospholipid dalam SKD yang memiliki nilai seimbang dalam melindungi membran plasma spermatozoa. Hal ini berbeda dengan P0, P1, dan P3 yang memiliki nilai viabilitas yang lebih kecil dan menurun dengan konsentrasi SKD yang belum seimbang. Penurunan viabilitas disebabkan juga oleh semakin sedikitnya spermatozoa yang memiliki cadangan energi yang cukup untuk digunakan bergerak, karena spermatozoa telah mengalami *cold shock* dapat mengalami destabilisasi membran (Ihsan, 2008), sedangkan menurut Wiratri *et al.*, (2014) menyatakan bahwa fungsi membran pada spermatozoa sebagai pelindung, apabila suatu sel mengalami kerusakan membran maka mengakibatkan terganggunya proses metabolisme intraseluler sehingga spermatozoa akan mengalami kelemahan dan pada akhirnya akan mati, hal ini menyebabkan nilai viabilitas spermatozoa sapi angus semakin rendah.

Kematian spermatozoa ditandai dengan adanya sel spermatozoa yang mampu menyerap warna, akibat pecahnya sel selama penyimpanan. Pewarna yang dipakai dalam menilai viabilitas spermatozoa memiliki prinsip kerja tidak dapat melewati membran sel yang utuh mengakibatkan warna menjadi lemah pada sel spermatozoa, namun dapat mewarnai amina pada sel spermatozoa yang rusak (Ugur *et al.*, 2019). Perbedaan rerata nilai viabilitas pada penelitian ini juga diakibatkan adanya perbedaan komposisi zat pengencer yang dipakai, dimana terjadi penurunan suhu akibat pendinginan sehingga ketersediaan zat pengencer menjadi

berkurang (Situmorang, 2008). Zakir (2010) menyatakan bahwa semakin sedikit komposisi perbandingan didalam campuran bahan pengencer maka volume semen akan semakin padat dan daya hidupnya juga relatif banyak, sehingga perlakuan terbaik pada P2 karena konsentarsi TKT dan SKD yang seimbang. Selanjutnya, rendahnya kemampuan susu kacang kedelai dalam mempertahankan viabilitas spermatozoa dijelaskan oleh Arifiantini et al., (2010) susu kacang kedelai tidak mengandung karbohidrat, karbohidrat dapat dimetabolisir menjadi energi berupa adenosine triphosphate (ATP).

Nilai rerata abnormalitas spermatozoa pada keempat perlakuan setelah penyimpanan adalah tidak berbeda ( $P>0.05$ ) yaitu P0 ( $7.15\pm0.49\%$ ) P1 ( $7.06\pm0.64\%$ ), P2 ( $7.34\pm0.37\%$ ), P3 ( $6.97\pm0.56\%$ ), dan P4 ( $7.17\pm0.56\%$ ). Nilai rerata abnormalitas pada keempat perlakuan juga menunjukkan nilai abnormalitas yang masih berada pada kisaran normal untuk IB. Kisaran normal abnormalitas spermatozoa yang layak adalah  $<20\%$ , hal ini sesuai dengan pernyataan Hafez, (2000) yaitu abnormalitas spermatozoa yang tidak melebihi nilai  $20\%$  maka untuk layak diproses bagi pengenceran dan IB. Nilai hasil penelitian pada abnormalitas yang diperoleh lebih tinggi dibandingkan dengan hasil pengamatan Rhoyan *et al.*, (2014) yaitu persentase abnormalitas spermatozoa semen sapi Limosin dengan konsentrasi susu kedelai  $20\%$  yaitu  $4,67\%$ . Lebih tingginya nilai abnormalitas hasil penelitian dapat disebabkan oleh proses pembuatan susu kedelai yang belum sempurna sehingga berdampak terhadap morfologi spermatozoa sapi Angus, selain itu membran plasma sel spermatozoa mamalia termasuk sapi memiliki komponen asam ganda lemak tak jenuh (*polyunsaturated fatty acid*) yang menyebabkan hilangnya mekanisme kemampuan sitoplasma selama penyimpanan dan dapat meningkatkan nilai abnormalitas akibat stres oksidasi (Ximenes, 2021). Ahmed (2016) menjelaskan bahwa nilai abnormalitas yang ditemukan pada ekor dari total spermatozoa pada tahap pengenceran hingga tahap pasca pencairan dapat dikaitkan dengan adanya efek phyto-toxic bahan kimia dan inhibitor protein dalam kedelai yang merusak membran spermatozoa selama kriopreservasi, yang dapat juga terjadi pada preservasi.



**Gambar 1.** Abnormalitas Spermatozoa Sapi Angus pada Mikroskop Cahaya Perbesaran 400 Kali

Bentuk-bentuk abnormalitas hasil penelitian yang ditemukan pada gambar 1 adalah ekor yang melingkar dan terputusnya kepala dari ekor. Hal ini diduga karena masih banyaknya protein makro yang tidak diperlukan atau menghambat spermatozoa yang terdapat didalam pengencer, dikarenakan pada proses pembuatan sari kacang kedelai yang belum sempurna (Alawiyah dan Hartono, 2006).

## **SIMPULAN**

Berdasarkan hasil penelitian dianalisis mengguakan *Analysis of variance* (ANOVA) dan uji lanjutan Duncan yang dilakukan diperoleh simpulan bahwa pengencer TKT dengan substitusi SKD yang digunakan memiliki hasil yang terbaik motilitas, viabilitas, dan abnormalitas pada perlakuan P2 (1.5 mL). TKT dan SKD yang digunakan dapat mempertahankan konfigurasi normal bentuk spermatozoa sehingga dapat meminimalisir persentase abnormalitas. Spermatozoa tidak dapat bertahan lama karena semakin tinggi konsentrasi pengencer yang digunakan maka semakin menurun kualitas spermatozoa.

## **DAFTAR PUSTAKA**

- Andrabi SM, Ansari MS, Ullah N, Anwar M, Mehmood A, Akhter S. Duck egg yolk in extender improves the freezability of buffalo bull spermatozoa. *Anim Reprod Sci.* 2008 Mar 3;104(2-4):427-33.
- Anzar, M., Rajapaksha, Kosala, Boswall, Lyle., (2019). Egg Yolk-Free Cryopreservation of Bull Semen. *PLoS ONE.* 14(10) 1-18.
- Hafez, E.S.E. 2000. Semen Evaluation. In *Reproduction in Farm Animals*. 7th ed. Lea and Febiger, Philadelphia.
- Layek SS, Mohanty TK, Kumaresan A, Parks JE. (2016). Cryopreservation of Bull Semen: Evolution From Egg Yolk Based to Soybean Based Extenders. *Anim Reprod Sci.* 172: 1-9.
- Mehmood, A., M. Anwar, & S. M. Saqlan-Naqvi. 2009. Motility, acrosome integrity, membrane integrity, and oocyte cleavage rate of sperm separated by swim-up or Percoll gradient method from frozen-thawed buffalo semen. *Anim. Reprod. Sci.* 111: 141-148.
- Pamungkas, F. A. dan Anwar. (2013). Daya tahan hidup spermatozoa kambing Boer dalam pengencer tris kuning telur yang disimpan pada temperatur berbeda. *Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian.* 1(12): 331 – 339.
- Parkinson TJ dan Morrell JM. (2019) *Artificial Insemination. Veterinary Reproduction and Obstetrics* (Tenth Edition) pp. 746-777.
- Santos JR, Amaral A, Sousa AP, Rodrigues AS, Martins L, Baptista M, Mota PC, Tavares R, Amaral R, Gamboa S. (2013). Probing the Structure and Function of Mammalian Sperm using Optical and Fluorescence

- Microscopy. (2013). Modern Research and Educational Topics in Microscopy, 394-402.
- Toelihere, M. R. (1993). Inseminasi Buatan pada Ternak. Angkasa. Bandung.
- (2006). Pokok-pokok pikiran tentang perkembangan (bio) teknologi reproduksi di masa lalu, masa kini, dan masa yang akan datang dalam menunjang pembangunan peternakan di Indonesia. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.membranes.
- Theriogenology. 38: 209- 222.
- Ugur MR, Saber AA, Evans HC, Gilmore AA, Hitit M, Arifiantini RI, Purwantara B, Kaya A, Memili E. (2019). Advances in Cryopreservation of Bull Sperm. 1-15 (6). Frontiers in Veterinary Science.
- Wiratri, V. D. B., T. Susilawati dan S. Wahyuningsih. (2014). Kualitas semen sapi Limousin pada pengencer yang berbeda selama pendinginan. Jurnal Ternak Tropika. 15(1): 13 – 20.
- Zakir. M. I. (2010) Pengaruh perbandingan semen dengan pengencer campuran sari kacang hijau-sitrat dan lama penyimpanan terhadap daya hidup spermatozoa kambing Kacang (*Capra hircus*). Asing. 28(2): 156 – 161
- Ximenes, A. (2021). Kualitas Spermatozoa Sapi Bali (*Bos sondaicu*) dalam Pengencer Tris Kuning Telur dengan Penambahan *Astaxanthin* (Skripsi). Kupang: Program Studi Biologi, Universitas San Pedro.