

PENGARUH PLASMA SEMEN SAPI TERHADAP KUALITAS SEMEN BEKU KERBAU LUMPUR (*Bubalus bubalis*)

MUHAMMAD RIZAL AMIN¹, MOZES R. TOELIHERE², TUTY L. YUSUF², dan POLMER SITUMORANG³

¹Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian Universitas Patimura, Jalan Ir. Tutuhena, Ambon 97233, Indonesia

²Bagian Reproduksi dan Kebidanan, Fakultas Kedokteran Hewan,

Institut Pertanian Bogor, Jalan Taman Kencana I No. 3, Bogor 16151, Indonesia

³Balai Penelitian Ternak, P.O. Box 221, Bogor 16002, Indonesia

(Diterima dewan redaksi 8 Desember 1998)

ABSTRACT

AMIN, M. R., MOZES R. TOELIHERE, TUTY L. YUSUF, and POLMER SITUMORANG. 1999. Effects of bovine seminal plasma on frozen semen quality of swamp buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 4(3): 143-147.

Semen of two healthy swamp buffalo bulls were collected twice a week using artificial vagina. After initial evaluation, semen was divided into two parts, 1/3 for control (PK) and 2/3 for treatment (PS) and centrifugated at 3,000 rpm for 20 minutes. Seminal plasma of the second part was removed and changed with bovine seminal plasma for 0 minute (PS₀) and 5 minutes (PS₅) before semen was diluted with lactose extender containing 7% glycerol. Mean percentage of motility after thawing for PS₅ (55.71%) was significantly higher (P<0.01) than PK (41.43%), but not significantly different with PS₀ (52.43%). PS₀ was significantly higher than PK. Mean percentage of live sperm and intact plasma membrane for PS₅ (63.43% and 64.71%) were significantly higher (P<0.01) than PK (55.71% and 53.57%), but not significantly different with PS₀ (61.14% and 59.28%). There was no significant difference between PS₀ and PK for mean percentage of live sperm and intact plasma membrane parameters. Mean percentage of intact acrosomal for PS₅ (53.57%) was significantly higher (P<0.01) than PS₀ (48.14%) and PK (43.14%). PS₀ was significantly higher (P<0.01) than PK. Under conditions of these experiment it may be concluded that replacement of buffalo seminal plasma with bovine seminal plasma and diluted with lactose extender could improve of frozen semen quality of swamp buffaloes.

Key words : Cattle seminal plasma, frozen semen, swamp buffalo

ABSTRAK

AMIN, M. R., MOZES R. TOELIHERE, TUTY L. YUSUF, dan POLMER SITUMORANG. 1999. Pengaruh plasma semen sapi terhadap kualitas semen beku kerbau lumpur (*Bubalus bubalis*). *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 4(3): 143-147.

Semen dari dua ekor kerbau lumpur yang sehat ditampung dua kali seminggu dengan menggunakan vagina buatan. Setelah evaluasi awal, semen dibagi menjadi dua bagian, 1/3 untuk kontrol (PK) dan 2/3 untuk perlakuan (PS) dan disentrifugasi dengan kecepatan 3.000 rpm selama 20 menit. Plasma semen pada bagian kedua dibuang dan diganti dengan plasma semen sapi 0 menit (PS₀) dan 5 menit (PS₅) sebelum semen diencerkan dengan pengencer laktosa yang mengandung 7% gliserol. Rataan persentase motilitas setelah *thawing* untuk PS₅ (55,71%) sangat nyata lebih tinggi (P<0,01) daripada PK (41,43%), tetapi tidak berbeda nyata dengan PS₀ (51,43%). PS₀ sangat nyata lebih tinggi daripada PK. Rataan persentase hidup sperma dan membran plasma utuh untuk PS₅ (63,43% dan 64,71%) sangat nyata lebih tinggi (P<0,01) daripada PK (55,71% dan 53,57%), tetapi tidak berbeda nyata dengan PS₀ (61,14% dan 59,28%). Tidak terdapat perbedaan yang nyata antara PS₀ dan PK untuk parameter persentase hidup sperma dan plasma membran utuh. Rataan persentase tudung akrosom utuh untuk PS₅ (53,57%) sangat nyata lebih tinggi (P<0,01) daripada PS₀ (48,14%) dan PK (43,14%). PS₀ sangat nyata lebih tinggi (P<0,01) daripada PK. Di bawah kondisi penelitian ini dapat disimpulkan bahwa penggantian plasma semen kerbau dengan plasma semen sapi dan diencerkan dengan pengencer laktosa dapat meningkatkan kualitas semen beku kerbau lumpur.

Kata kunci : Plasma semen sapi, semen beku, kerbau lumpur

PENDAHULUAN

Populasi ternak kerbau lumpur dari tahun ke tahun cenderung tidak mengalami peningkatan. Untuk meningkatkan populasi dan mutu genetik ternak kerbau, perlu didekati dengan teknologi bidang reproduksi. Inseminasi buatan (IB) adalah salah satu alternatif yang

tepat, karena teknologi ini tergolong sederhana dan lebih aplikatif. Di Indonesia, teknologi tersebut sebenarnya telah diterapkan pada ternak kerbau sejak tahun 1975, namun hasilnya belum begitu mengembirakan.

Salah satu penyebab rendahnya angka kebuntingan hasil IB pada kerbau diduga karena

rendahnya mutu semen beku kerbau tersebut. Hal ini disebabkan karena sperma kerbau lebih mudah rusak dibandingkan dengan sperma sapi pada saat pembekuan (GOYAL *et al.*, 1996), mungkin karena kandungan protein plasma semen kerbau lebih rendah dibandingkan dengan plasma semen sapi (RATTAN, 1990; SENGUPTA dan BHELA, 1990). Perubahan akrosom spermatozoa menjadi bengkak, pecah, mengkerut, dan robek meningkat dari 6,52% pada semen segar menjadi 55,06% setelah semen dibekukan (KRISHNA dan RAO, 1987). Plasma semen kerbau juga mengandung faktor antimotilitas yang lebih banyak, sehingga diperoleh persentase motilitas yang hanya sekitar 20 sampai 50% pada semen yang telah dibekukan (GOYAL *et al.*, 1996). Selain itu plasma semen kerbau juga mengandung faktor spermistatik yang dapat menurunkan daya hidup sperma (AHMAD *et al.*, 1996).

Protein plasma semen sapi yang berfungsi melindungi membran plasma sperma saat pendinginan dan pembekuan, peranannya tidak sepenuhnya dapat digantikan oleh protein yang ada dalam pengencer (SITUMORANG *et al.*, 1995). Kemampuan protein plasma semen sapi dalam melindungi membran plasma sperma sangat tinggi dibandingkan dengan protein plasma semen hewan lain (SINHA *et al.*, 1996).

Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh SITUMORANG *et al.* (1995) didapatkan bahwa penggantian plasma semen kerbau dengan plasma semen sapi dan diencerkan dengan pengencer laktosa cenderung memberikan hasil yang lebih baik daripada yang tidak diganti plasma semennya, walaupun secara statistik tidak berbeda nyata. Diduga bahwa dibutuhkan waktu beberapa saat oleh spermatozoa kerbau untuk berinteraksi dengan protein plasma semen sapi, sebelum semen diencerkan. Hal ini penting untuk memberikan peluang yang lebih besar kepada protein plasma sapi untuk menstabilkan membran plasma spermatozoa kerbau.

Penelitian ini bertujuan untuk mencari alternatif dalam upaya meningkatkan kualitas spermatozoa semen beku kerbau lumpur sehingga tetap memenuhi syarat untuk digunakan dalam program IB serta mengetahui kombinasi yang terbaik antara plasma semen (kerbau dan sapi) dengan jenis pengencer dalam upaya meningkatkan kualitas spermatozoa semen beku kerbau lumpur.

MATERI DAN METODE

Percobaan dirancang dalam rancangan acak lengkap dan perbedaan antar perlakuan diuji dengan uji Beda Nyata Jujur (STEEL dan TORRIE, 1993) dengan tiga perlakuan dan tujuh ulangan. Hewan percobaan adalah dua ekor kerbau lumpur jantan berumur sekitar 4

tahun dan bobot badan 400 kg. Hewan percobaan ditempatkan di dalam kandang individu dan diberi pakan berupa rumput Gajah segar 40 kg per ekor per hari. Air minum diberikan secara *ad libitum*. Setiap hari kerbau disiram dan sesekali diberi kesempatan berkubang.

Penampungan semen

Semen ditampung dengan menggunakan vagina buatan dua kali dalam seminggu. Segera setelah ditampung, semen dievaluasi, meliputi penilaian makroskopis (volume, warna, kekentalan dan pH) serta penilaian mikroskopis (gerakan massa, persentase motilitas, persentase hidup, konsentrasi, persentase abnormalitas, persentase membran plasma utuh dan persentase tudung akrosom utuh spermatozoa).

Pencucian semen

Semen dibagi ke dalam dua tabung, masing-masing dengan volume 1/3 dan 2/3 bagian, kemudian disentrifus dengan kecepatan 3.000 rpm selama 20 menit. Tabung yang berisi 1/3 bagian sebagai kontrol (PK). Plasma semen pada tabung yang berisi 2/3 bagian dibuang dan diganti dengan plasma semen sapi FH (sebanyak plasma semen kerbau yang dibuang) 0 menit (PS₀) dan 5 menit (PS₅) sebelum diencerkan dengan pengencer laktosa bagian A dengan kandungan 2% gliserol.

Pendinginan

Semen didinginkan selama 2 jam dengan mesin pendingin (*cooler*) sampai mencapai suhu 5°C. Semen diencerkan lagi dengan pengencer laktosa bagian B dengan kandungan 12% gliserol, sehingga konsentrasi akhir gliserol sebesar 7%. Kemudian semen diekuilibrasikan selama 4 jam di dalam ruang pendingin (*cool room*).

Pengemasan

Setelah ekuilibrasikan, semen dikemas ke dalam straw ukuran 0,25 ml dengan sperma motil sebanyak 15 juta per straw, kemudian straw ditutup dengan serbuk *polyvinilchloride* (PVC).

Pembekuan dan *thawing*

Pembekuan diawali dengan proses penguapan, yakni dengan cara menempatkan straw-straw yang telah berisi semen, 8 cm di atas permukaan hidrogen cair (suhu sekitar -130°C) selama 10 menit di dalam *styrofoam* yang ditutup rapat. Selanjutnya straw dimasukkan ke dalam nitrogen cair, dan disimpan di dalam kontainer. Setelah satu minggu semen *dithawing* dengan cara memasukkan straw ke dalam air hangat bersuhu 37°C selama 15 detik untuk evaluasi kualitas semen pasca *thawing*.

Evaluasi kualitas sperma

Evaluasi kualitas sperma meliputi : persentase motilitas, persentase hidup dan integritas membran plasma sperma, yakni persentase membran plasma utuh (MPU) dan persentase tudung akrosom utuh (TAU). Persentase motilitas, persentase hidup dan persentase MPU dinilai dengan mikroskop cahaya, skor yang diberikan dari 0% sampai dengan 100%. Persentase MPU dievaluasi dengan menggunakan larutan hipoosmotik. Persentase TAU dievaluasi dengan menggunakan mikroskop fase kontras pembesaran 1.000 kali dengan bantuan larutan garam formalin, skor yang diberikan 0% sampai dengan 100%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sifat fisik dan kimia semen segar

Rataan nilai sifat fisik semen segar kerbau percobaan ditunjukkan pada Tabel 1. Berdasarkan nilai-nilai pada Tabel 1, dapat dikatakan bahwa kuantitas dan kualitas semen segar kerbau percobaan adalah baik. Hal ini diduga karena kerbau percobaan berada pada umur kematangan dalam bereproduksi dan manajemen yang baik. Umur bereproduksi kerbau jantan yang terbaik adalah antara 3 dan 5 tahun (SAEED *et al.*, 1990).

Tabel 1. Karakteristik semen segar kerbau lumpur

Parameter	Ukuran
Volume (ml)	2,20 ± 0,42
Warna	Putih susu
Konsistensi	Kental
Derajat keasaman (pH)	6,89 ± 0,08
Gerakan massa	(++/++)
Persentase motilitas (%)	76,43 ± 3,50
Persentase hidup (%)	85,71 ± 3,65
Konsentrasi (juta/ml)	1447,14 ± 160,84
Persentase abnormalitas (%)	12,14 ± 1,24
Persentase MPU (%)	85,14 ± 3,09
Persentase TAU (%)	93,28 ± 1,66

Kandungan protein plasma semen sapi FH lebih tinggi daripada plasma semen kerbau lumpur (Tabel 2). Hal ini memberikan gambaran bahwa plasma semen sapi FH lebih mampu melindungi sperma kerbau lumpur selama proses pengolahan semen dibandingkan dengan plasma semen kerbau itu sendiri.

Tabel 3. Rataan persentase motilitas, hidup, MPU dan TAU sperma kerbau lumpur pada ketiga tahap pengolahan semen

Parameter	Tahap	PK	PS ₀	PS ₅
-----------	-------	----	-----------------	-----------------

Tabel 2. Komposisi beberapa unsur kimia plasma semen kerbau lumpur dan plasma semen sapi FH yang digunakan selama penelitian*

Unsur	Kerbau Lumpur	Sapi FH
	----- mg/100 ml -----	
Protein	314,40	694,60
Asam askorbat	10,70	18,10
Natrium	150,20	136,20
Kalium	60,10	48,30
Kalsium	39,30	33,10

*Hasil analisis Laboratorium Analisis, Balai Penelitian Ternak, Ciawi

Persentase motilitas dan persentase hidup

Rata-rata persentase motilitas sperma setelah *thawing* tertinggi pada perlakuan PS₅ kemudian diikuti oleh PS₀ dan PK (P<0,05) (Tabel 3). Hal ini juga didukung oleh rata-rata persentase hidup.

Tingginya persentase motilitas dan persentase hidup sperma pada perlakuan penggantian plasma semen disebabkan karena dengan mengganti plasma semen, faktor antimotilitas dan spermiostatik yang lebih banyak terdapat di dalam plasma semen kerbau sedikit dapat dieliminir. Hal lain yang mendukung adalah kandungan protein dan asam askorbat plasma semen sapi lebih banyak daripada plasma semen kerbau (Tabel 2). Protein dan asam askorbat berfungsi melindungi susunan lipoprotein membran plasma sperma selama proses pendinginan, pembekuan dan *thawing*, terutama kerusakan mekanis yang disebabkan kristal-kristal es yang terbentuk selama pembekuan semen (BECONI *et al.*, 1993; SINHA *et al.*, 1996). Dengan tetap terjaganya membran plasma, maka proses metabolisme di dalam sperma juga akan tetap berlangsung dengan baik, yang pada akhirnya berpengaruh positif terhadap motilitas dan daya hidup sperma selama penyimpanan.

Integritas membran plasma sperma

Evaluasi integritas membran plasma meliputi penilaian terhadap keutuhan membran plasma (MPU) dan keutuhan akrosom (TAU). Rata-rata persentase MPU dan TAU perlakuan plasma semen sapi (PS₅ dan PS₀) lebih tinggi daripada kontrol (Tabel 3).

		----- % -----		
Persentase motilitas	Pengenceran	73,57 ± 4,40 ^a	75,71 ± 3,19 ^a	76,43 ± 3,49 ^a
	Ekuilibrasi	62,86 ± 3,64 ^a	69,28 ± 4,95 ^b	70,00 ± 3,78 ^b
	Thawing	41,43 ± 5,80 ^a	51,43 ± 5,15 ^b	55,71 ± 3,19 ^b
Persentase hidup	Pengenceran	80,43 ± 4,17 ^a	82,57 ± 3,50 ^a	82,86 ± 3,72 ^a
	Ekuilibrasi	73,00 ± 2,83 ^a	74,71 ± 3,57 ^a	77,14 ± 3,48 ^a
	Thawing	55,71 ± 4,23 ^a	61,14 ± 4,39 ^{ab}	63,43 ± 3,58 ^b
Persentase MPU	Pengenceran	76,57 ± 3,24 ^a	78,71 ± 3,77 ^a	79,57 ± 3,29 ^a
	Ekuilibrasi	71,71 ± 3,88 ^a	72,71 ± 4,71 ^a	75,43 ± 4,37 ^a
	Thawing	53,57 ± 5,42 ^a	59,28 ± 6,92 ^{ab}	64,71 ± 3,95 ^b
Persentase TAU	Pengenceran	87,28 ± 2,05 ^a	87,43 ± 1,84 ^a	88,57 ± 1,29 ^a
	Ekuilibrasi	75,57 ± 2,13 ^a	77,86 ± 1,96 ^a	78,43 ± 2,61 ^a
	Thawing	43,14 ± 4,29 ^a	48,14 ± 2,59 ^b	53,57 ± 3,06 ^c

Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata pada taraf uji 5% (BNJ)

Tingginya nilai integritas membran yang diperoleh pada perlakuan plasma semen sapi disebabkan karena selain kandungan protein plasma semen sapi lebih banyak daripada plasma semen kerbau, juga karena kemampuannya dalam melindungi membran plasma sperma lebih baik. Dengan demikian hanya sedikit fosfolipid membran plasma sperma yang mengalami peroksidasi. Akibat dari peroksidasi akan terbentuk peroksid lipid, yang bereaksi dengan radikal bebas dan merangsang terjadinya reaksi otokatalitik, yang mengakibatkan rusaknya membran plasma (SINHA *et al.*, 1996).

Kandungan asam lemak tak jenuh membran plasma kerbau mungkin lebih tinggi, sementara kolesterolnya lebih rendah. Asam lemak tak jenuh sangat mudah mengalami peroksidasi lipid. Sementara itu, kolesterol berfungsi memperkuat ikatan ganda asam lemak tak jenuh sehingga tidak mudah rusak. Kandungan kolesterol plasma semen kerbau lebih rendah daripada plasma semen sapi (SENGUPTA dan BHELA, 1990). Kolesterol berfungsi menstabilkan membran plasma. Meningkatnya kerusakan sperma akibat kejutan dingin berhubungan dengan rendahnya kandungan kolesterol membran plasma (AURICH *et al.*, 1996). Hal lain yang diduga mendukung tingginya nilai MPU dan TAU pada perlakuan plasma semen adalah karena kandungan asam askorbat plasma semen sapi lebih banyak daripada plasma semen kerbau. Sebagai salah satu zat antioksidan, asam askorbat diketahui ikut berperan dalam memperlambat terjadinya kerusakan pada membran plasma sel dan juga isi sel secara keseluruhan. Asam askorbat akan menetralkan kerja radikal bebas, sehingga tidak terbentuk hidrogen peroksida (H₂O₂) yang diketahui merusak ikatan ganda

asam lemak tak jenuh fosfolipid membran plasma sperma. Penambahan 5 mM sodium askorbat ke dalam pengencer dapat menurunkan kerentanan membran sperma terhadap peroksidasi (BECONI *et al.*, 1993). Asam askorbat dapat mencegah peroksidasi lipid membran plasma, sekaligus sebagai pelindung membran plasma sperma kuda dari kerusakan akibat peroksida (AURICH *et al.*, 1997).

KESIMPULAN

Dari data yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa penggantian plasma semen kerbau dengan plasma semen sapi dan diencerkan dengan pengencer laktosa dapat meningkatkan kualitas semen beku kerbau lumpur.

SARAN

Untuk mendapatkan semen beku kerbau dengan kualitas yang baik, sebaiknya plasma semen kerbau diganti dengan plasma semen sapi dan diencerkan dengan pengencer laktosa.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada pengelola Laboratorium Fisiologi dan Kandang Ruminansia Besar, Balai Penelitian Ternak, Ciawi yang telah memberikan bantuan selama penelitian berlangsung.

DAFTAR PUSTAKA

- AHMAD, M., A. KHAN, Z.A. SHAH, and K.M. AHMAD. 1996. Effects of removal of seminal plasma on the survival rate of buffalo bull spermatozoa. *J. Anim. Reprod. Sci.* 41:193-199.
- AURICH, J.E., A. KUHNE, H. HOPPE, and C. AURICH. 1996. Seminal plasma effects membrane integrity and motility of equine spermatozoa after cryopreservation. *Theriogenology* 46:791-797.
- AURICH, J.E., U. SCHNOHERR, H. HOPPE, and C. AURICH. 1997. Effects of antioxidants on motility and membrane integrity of chilled-store stallion semen. *Theriogenology* 48:841-851.
- BECONI, M.T., C.R. FRANCA, N.G. MORA, and M.A. AFRANCHINO. 1993. Effect of natural antioxidants on frozen bovine semen preservation. *Theriogenology* 40:841-851.
- GOYAL, R.L., R.K. TULI, G.C. GEORGIE, and D. CHAND. 1996. Comparison of quality and freezability of water buffalo semen after washing or sephadex filtration. *Theriogenology* 46:679-686.
- KRISHNA, K.M. and A.R. RAO. 1987. Acrosomal morphology and freeze-thawed buffalo sperm. *Indian Vet. J.* 64:246-249.
- RAIZADA, B.C., A. SATTAR, and M.D. PANDEY. 1990. Comparative study of freezing buffalo semen *in vitro* dilutors. Proc. of the II World Buffalo Congress, New Delhi. p. 26-30.
- RATTAN, P.J.S. 1990. Physico-chemical constituents of buffalo bull semen. Proc. of the II World Buffalo Congress, New Delhi. p. 26-30.
- SAEED, A., R.A. CHAUDHARY, I.H. KHAN, and N.U. KHAN. 1990. Morphology of semen of buffalo bulls of different age groups. Proc. of the II World Buffalo Congress, New Delhi. p. 17-19.
- SENGUPTA, B.P. and S.L. BHELA. 1990. Current status of male fertility research in buffaloes. Buffalo Production and Health. A Compendium of Latest Research Information Based on India Studies. India Council of Agricultural Research Krishi Anusandhan Bhavan, Pusa, New Delhi. p. 63-88.
- SINHA, M.P., A.K. SINHA, B.K. SINGH, and R.L. PRASAD. 1996. The effect of glutathione on motility, enzyme leakage and fertility of frozen goat semen. *J. Anim. Reprod. Sci.* 41:237-243.
- SITUMORANG, P., E. TRIWULANINGSIH, K. DIWYANTO, I.G. PUTU, dan A. R. SIREGAR. 1995. Pengaruh seminal plasma sapi terhadap daya hidup sperma kerbau. *Ilmu dan Peternakan*, Edisi khusus. p. 100-108.
- STEEL, R.G.D dan J.H. TORRIE. 1993. *Prinsip dan Prosedur Statistika, Suatu Pendekatan Biometrik*. Terjemahan Bambang Sumantri. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.

