

KUALITAS SPERMATOZOA EPIDIDIMIS SAPI PERANAKAN ONGOLE (PO) YANG DISIMPAN PADA SUHU 3-5°C

Takdir Saili, Hamzah, Achmad Selamat Aku

Email: takdir69@yahoo.com

Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian Universitas Haluoleo, Kendari

Abstract

Using of epididymal spermatozoa for both *in vivo* and *in vitro* fertilization is still limited. This is may be caused by limitation of information related to epididymal spermatozoa quality. Evaluation of epididymal spermatozoa quality of peranakan ongole (PO) cattle breed was conducted during storage of semen into refrigerator (3-5°C). The results revealed that motility of PO caudal epididymal spermatozoa was decreased during storage and met 34.778% on day 2 of storage. This also occurred on both percentage of living spermatozoa and intact plasma membrane of the spermatozoa. Percentage of living spermatozoa and intact plasma membrane of spermatozoa were decreased up to 39.033% and 41.00%, respectively. While percentage of cytoplasmic droplet tended to be constant during storage. In conclusion, quality of caudal epididymal spermatozoa of PO cattle breed was decreased in responds to the increasing of storage time. The maximum days of storage in refrigerator for caudal epididymal spermatozoa of PO cattle breed in order to meet the standard for artificial insemination was 2 days.

Key words: epididymal spermatozoa, PO cattle breed, motility, cytoplasmic droplet

Abstrak

Pemanfaatan spermatozoa epididimis sapi untuk tujuan fertilisasi baik secara *in vivo* maupun *in vitro* belum menjadi perhatian utama. Hal ini mungkin disebabkan oleh keterbatasan data tentang kualitas spermatozoa epididimis. Pada penelitian ini dilakukan evaluasi kualitas spermatozoa epididimis sapi peranakan ongole (PO) selama penyimpanan di dalam lemari es dengan suhu 3-5°C. Hasil evaluasi menunjukkan bahwa persentase motilitas spermatozoa mengalami penurunan selama penyimpanan, bahkan pada hari kedua nilai persentase motilitas spermatozoa hanya berkisar 34.778%. Demikian halnya dengan nilai persentase spermatozoa hidup dan persentase keutuhan membran plasma spermatozoa mengalami penurunan walaupun nilai penurunannya hanya mencapai 39.033% (persentase spermatozoa hidup) dan 41.00% (persentase membran plasma utuh) setelah disimpan selama dua hari. Sedangkan persentase sitoplasma droplet cenderung stabil selama penyimpanan. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa kualitas spermatozoa cauda epididimis sapi PO mengalami penurunan sejalan dengan peningkatan waktu penyimpanannya. Masa penyimpanan spermatozoa epididimis yang masih bisa ditolerir untuk tujuan fertilisasi menggunakan teknik inseminasi buatan (IB) maksimal dua hari.

Key words: spermatozoa epididimis, sapi PO, motilitas, sitoplasma droplet

PENDAHULUAN

Aplikasi teknologi inseminasi buatan (IB) dan pembuahan secara *in vitro* (*in vitro fertilization, IVF*) pada ternak sapi, sampai saat ini masih menggunakan spermatozoa hasil ejakulasi baik dalam bentuk semen cair maupun semen beku. Sumber spermatozoa lain yang berpotensi digunakan untuk membuahi sel telur adalah spermatozoa yang berasal dari epididimis, terutama spermatozoa pada bagian *cauda* epididimis. Toelihere (1985) menyatakan bahwa epididimis mempunyai empat fungsi utama yaitu transport, konsentrasi, maturasi dan penyimpanan spermatozoa. Lebih lanjut dinyatakan bahwa spermatozoa yang dibentuk pada tubuli seminiferi melalui rete testes diangkut menuju cauda epididimis, mengalami peningkatan jumlah konsentrasi, pematangan, dan disimpan di *cauda* epididimis sampai diejakulasikan saat kopulasi atau melalui rangsangan listrik (elektro ejakulator). Salah satu indikator yang dapat digunakan untuk mengetahui tingkat kematangan spermatozoa adalah keberadaan sitoplasma dropletnya. Selama spermatozoa berada di bagian *caput* dan *corpus* epididimis sitoplasma droplet berpindah dari daerah proksimal ke arah distal, sehingga pada bagian *cauda* epididimis hanya diperoleh sebagian kecil spermatozoa yang mempunyai sitoplasma droplet. Hingga saat ini penggunaan spermatozoa yang berasal dari bagian *cauda* epididimis belum mendapat perhatian serius walaupun telah dibuktikan kemampuannya dapat membuahi oosit.

Pemanfaatan spermatozoa *cauda* epididimis untuk tujuan inseminasi dilatarbelakangi oleh beberapa hal, antara lain jika terdapat pejantan unggul tetapi tidak dapat ditampung semennya. Berbagai kemungkinan dapat menyebabkan hal ini, seperti jantan tidak bersedia melayani vagina buatan, tidak respons terhadap elektroejakulator dan masase, pincang atau sebab-sebab lain yang menyebabkan hewan tersebut tidak mau melakukan aktivitas kawin. Selain itu, metode ini juga akan sangat membantu dalam upaya menyelamatkan plasma nutfah ternak atau hewan jantan yang mati secara mendadak. Teknologi ini dapat menjadi model konservasi hewan-hewan langka, buas atau liar yang sedang ditangkarkan tetapi tidak dapat melakukan aktivitas kawin secara normal karena kondisi tempat penangkaran yang tidak sesuai dengan kondisi habitat aslinya.

Spermatozoa asal epididimis pada beberapa kasus tidak dapat langsung digunakan sehingga harus disimpan pada lemari es untuk mencegah dan mengurangi kerusakan. Sejauh ini belum diketahui berapa lama penyimpanan epididimis pada lemari es dengan suhu 3–5°C yang dapat menghasilkan spermatozoa dengan kualitas yang masih memenuhi syarat untuk IB atau *in vitro fertilization*.

Berdasarkan uraian tersebut dilakukan penelitian tentang kualitas semen cair spermatozoa sapi peranakan ongole (PO) yang disimpan pada suhu 3–5°C. Hasil penelitian ini dapat memberikan informasi tentang perubahan kualitas spermatozoa *cauda* epididimis sapi PO yang disimpan pada suhu 3–5°C.

MATERI DAN METODE

Koleksi dan Penyimpanan Spermatozoa Epididimis

Spermatozoa epididimis diperoleh dari testis yang merupakan limbah rumah pemotongan hewan Kendari. Koleksi semen dilakukan dengan cara menyayat atau menusuk bagian cauda epididimis sedemikian rupa sehingga semen pada bagian cauda tersebut akan keluar. Semen selanjutnya ditampung dan disimpan pada lemari es dengan suhu 3-5°C dan diamati setiap hari selama masa penyimpanan (4 hari). Evaluasi kualitas spermatozoa dilakukan secara makroskopis meliputi penilaian warna dan derajat keasaman semen dan secara mikroskopis meliputi penilaian konsentrasi, persentase motilitas, persentase hidup, persentase membrane plasma utuh, dan persentase sitoplasma droplet spermatozoa.

Warna Semen

Warna semen dapat langsung dilihat pada tabung penampung semen tersebut segera setelah semen ditampung.

Derajat Keasaman (pH) Semen

Derajat keasaman (pH) semen diketahui dengan cara meneteskan semen di atas kertas indikator pH berskala 1 sampai 14.

Sedangkan evaluasi secara mikroskopis terutama ditujukan pada kualitas spermatozoa meliputi :

Persentase Motilitas Spermatozoa

Persentase motilitas spermatozoa ditentukan melalui pengamatan spermatozoa di bawah mikroskop dengan menggunakan lensa obyektif 40x pada enam lapang pandang. Penilaian yang diberikan mulai nol persen (tidak ada spermatozoa yang bergerak ke depan) sampai 100 persen (semua spermatozoa bergerak ke depan).

Konsentrasi Spermatozoa dan Persentase Membran Plasma Utuh (MPU)

Perhitungan konsentrasi spermatozoa dilakukan secara bersamaan dengan penentuan keutuhan membrane plasma spermatozoa menggunakan alat haemocytometer. Semen diencerkan sebanyak 400x menggunakan medium *Hypoosmotic Swelling Test*

(NaCl 0,032 M). Semen yang telah diencerkan selanjutnya dimasukkan ke dalam kamar hitung haemocytometer, kemudian dilakukan penghitungan pada lima kotak teracak. Konsentrasi spermatozoa diestimasi dengan menggunakan rumus:

$$KS = Sh \times FM \times P$$

Keterangan : KS = konsentrasi spermatozoa

Sh = jumlah spermatozoa yang terhitung pada Haemocytometer

FM = faktor multiplikasi

P = pengenceran

Sedangkan persentase membran plasma utuh (MPU) spermatozoa diketahui dengan menghitung jumlah spermatozoa yang ekornya melingkar dibandingkan dengan total spermatozoa yang diamati, seperti pada rumus berikut:

$$\% MPU = \frac{\text{Jumlah spermatozoa dengan ekor melingkar}}{\text{Jumlah spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

Persentase Spermatozoa Hidup

Penentuan spermatozoa hidup dilakukan dengan menggunakan metode pewarnaan eosin. Spermatozoa yang dikategorikan hidup adalah spermatozoa yang tidak menyerap zat warna sehingga pada bagian kepala spermatozoa tidak terwarnai (putih), sedangkan spermatozoa yang dikategorikan mati adalah spermatozoa yang menyerap zat warna sehingga pada bagian kepalanya akan berwarna merah. Persentase hidup spermatozoa ditentukan berdasarkan perbandingan antara jumlah spermatozoa hidup dengan jumlah total spermatozoa yang dihitung. Jumlah total spermatozoa yang dihitung adalah 200 spermatozoa.

Persentase sitoplasma droplet

Pengamatan sitoplasma droplet dilakukan dengan membuat preparat ulas. Selanjutnya diamati di bawah mikroskop dengan menggunakan lensa obyektif 40X pada enam lapang pandang. Persentase sitoplasma droplet diketahui dengan cara membandingkan jumlah spermatozoa yang memiliki sitoplasma droplet dengan jumlah total spermatozoa yang diamati.

Analisis Data

Data hasil evaluasi secara makroskopis (warna dan pH) ditabulasi dan selanjutnya dianalisis menggunakan rata-rata serta diulas secara deskriptif. Sedangkan data mikroskopis yang lain (persentase motilitas, membran plasma utuh (MPU), persentase

hidup dan persentase sitoplasma droplet dianalisis secara kuantitatif dengan metode analisis regresi linear sederhana (Steel and Torrie, 1993), sedangkan untuk mengetahui hubungan antara lama penyimpanan dengan beberapa variable pengamatan mikroskopis digunakan analisis korelasi (Steel and Torrie, 1993).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Evaluasi Semen dan Spermatozoa

Hasil pengamatan semen secara makroskopis disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Spermatozoa Epididimis Sapi PO secara Makroskopis

Pemeriksaan	Waktu				
	Hari 0	Hari 1	Hari 2	Hari 3	Hari 4
Warna	Putih Kekuning- kuningan	Putih Kekuning- kuningan	Putih Kekuning- kuningan	Putih Kekuning- kuningan	Putih Kekuning- kuningan
pH	7	6	5,5	5	5

Hasil pengamatan makroskopis menunjukkan bahwa warna semen cauda epididimis sapi PO adalah putih kekuning-kuningan. Warna ini tetap stabil sampai dengan lama penyimpanan empat hari pada lemari es dengan suhu 3–5°C. Warna semen umumnya dipengaruhi oleh persentase kandungan pigment riboflavin di dalam semen yang menurut banyak pendapat tidak berpengaruh terhadap viabilitas spermatozoa dan kualitas semen. Hal ini senada dengan pernyataan Partodihardjo (1987) bahwa kira-kira 10% dari sapi jantan menghasilkan semen dengan warna krem tua atau kuning.

Pada penelitian ini rata-rata pH spermatozoa epididimis sapi PO yang diperoleh adalah 6,5 dengan kisaran 5 – 7. Menurut Toelihere (1985), pH semen sapi yang normal berkisar antara 6,2 dan 7,5. Selanjutnya dikatakan bahwa derajat keasaman (pH) semen merupakan salah satu faktor pembatas kelangsungan hidup spermatozoa di dalam semen. Perubahan pH ke arah yang lebih asam (angka lebih kecil dari 7) akibat penimbunan asam laktat hasil metabolisme anaerob dapat menurunkan tingkat kelangsungan hidup spermatozoa (Toelihere, 1993).

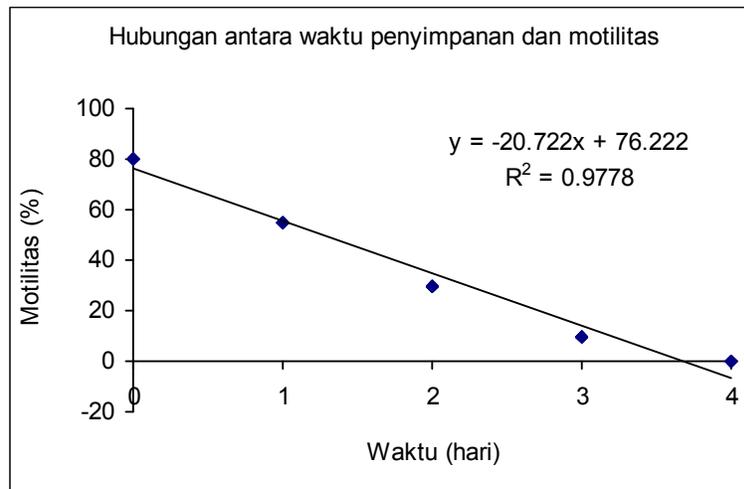
Hasil estimasi konsentrasi spermatozoa epididimis sapi PO yang diperoleh pada penelitian ini adalah 4.000.000.000/ml. Jumlah ini sangat besar dibandingkan dengan konsentrasi spermatozoa hasil ejakulasi yang hanya berkisar 965.50 ± 69.02 juta spermatozoa per mililiter (Saili, 1999). Hal ini sangat wajar terjadi karena fungsi cauda

epididimis adalah tempat konsentrasi dan penampungan sementara spermatozoa sebelum diejakulasikan. Selain itu, semen cauda epididimis belum bercampur dengan plasma semen sedangkan semen hasil ejakulasi sudah bercampur dengan plasma semen sehingga konsentrasi spermatozoanya akan lebih rendah dibandingkan semen pada cauda epididimis.

Hubungan Penyimpanan dengan Motilitas Spermatozoa Epididimis

Nilai rata-rata persentase motilitas spermatozoa segar yang berasal dari cauda epididimis sapi PO yang digunakan pada penelitian ini adalah 76%. Nilai ini masih pada kisaran persentase motilitas spermatozoa yang layak digunakan untuk fertilisasi, baik secara *in vivo* maupun *in vitro*. Namun demikian, selama penyimpanan nilai persentase motilitas spermatozoa semakin menurun sebagaimana ditampilkan pada Gambar 1.

Gambar 1. Hubungan antara lama penyimpanan dengan motilitas spermatozoa



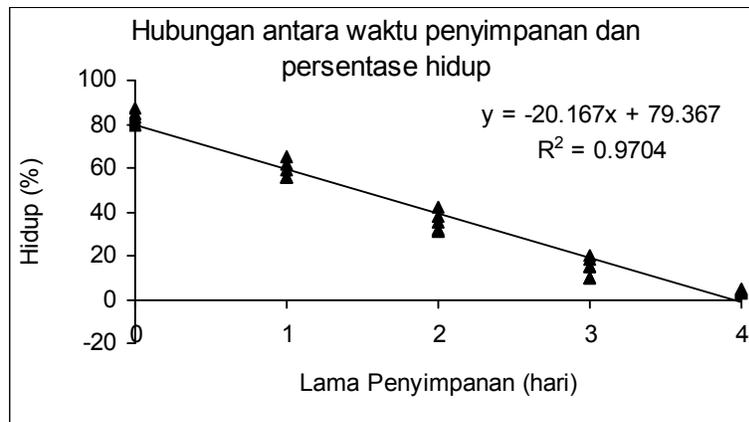
Grafik pada Gambar 1. menjelaskan bahwa hubungan antara lama penyimpanan dan motilitas spermatozoa epididimis sapi PO cenderung membentuk garis linear dengan nilai koefisien determinasi sebesar 0,9778. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang erat antara lama penyimpanan dengan penurunan motilitas spermatozoa. Semakin lama waktu penyimpanan, motilitas spermatozoa semakin menurun kualitasnya, bahkan setelah dua hari penyimpanan nilai persentase motilitas menurun menjadi 34.778%. Nilai ini berada di bawah ambang batas persentase motilitas spermatozoa yang dipersyaratkan untuk tujuan inseminasi buatan yaitu 40%.

Hubungan Lama Penyimpanan dengan Persentase Hidup Spermatozoa

Nilai rata-rata persentase hidup spermatozoa segar yang berasal dari cauda epididimis sapi PO yang diperoleh pada penelitian ini adalah 79,367 %. Nilai ini semakin

menurun sejalan dengan pertambahan waktu penyimpanan seperti yang tertera pada Gambar 2.

Gambar 2. Hubungan antara lama penyimpanan dengan persentase hidup spermatozoa



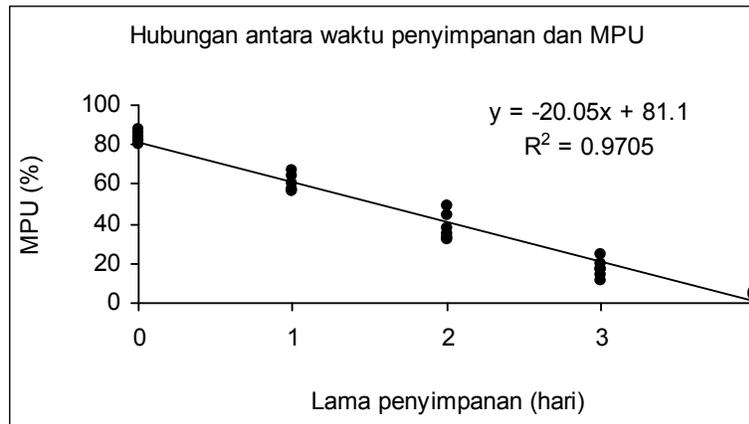
Grafik pada Gambar 2. menunjukkan bahwa koefisien determinasi antara faktor lama penyimpanan dengan persentase hidup spermatozoa epididimis sapi PO adalah 0,9704. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang erat antara lama penyimpanan dan persentase hidup spermatozoa. Peningkatan waktu penyimpanan akan menurunkan nilai persentase hidup spermatozoa. Bahkan pada hari kedua penyimpanan nilai persentase spermatozoa telah menunjukkan angka 39.033%. Nilai ini lebih besar dari nilai persentase motilitas spermatozoa (34.778%). Kondisi sangat logis terjadi karena secara kebanyakan spermatozoa yang tidak menunjukkan pergerakan masih memiliki membran plasma yang utuh sehingga tidak terwarnai oleh pewarna eosin. Spermatozoa yang tidak terwarnai oleh pewarna eosin dianggap spermatozoa hidup.

Hubungan Lama Penyimpanan dengan Membran Plasma Utuh (MPU) Spermatozoa

Nilai rata-rata keutuhan membran plasma spermatozoa epididimis sapi PO yang diperoleh pada penelitian ini adalah 81,1%. Nilai tersebut masih dalam kisaran nilai normal jika dihubungkan dengan kemampuan fertilisasi seperti yang dikemukakan oleh Revell dan Mrode (1994) dalam Saili (2006), bahwa nilai persentase keutuhan membran plasma yang kurang dari 60% dikategorikan spermatozoa yang infertile.

Hubungan antara lama penyimpanan dengan persentase membran plasma utuh (MPU) spermatozoa epididimis sapi PO dapat dilihat pada Gambar 3.

Gambar 3. Hubungan antara lama penyimpanan dengan Membran Plasma Utuh (MPU) spermatozoa epididimis sapi PO

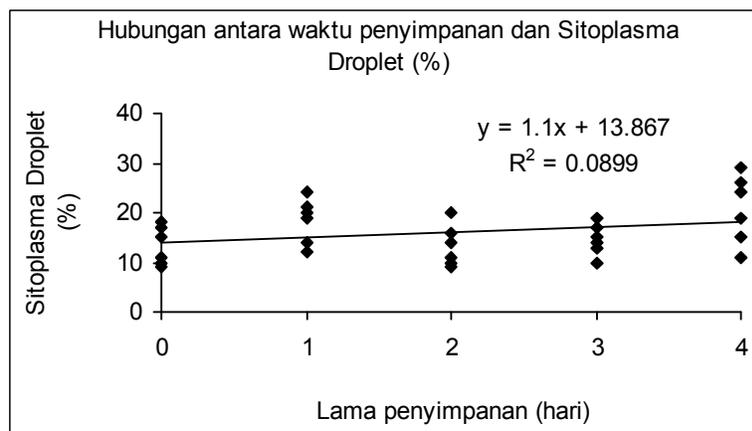


Grafik pada Gambar 3. menunjukkan bahwa koefisien determinasi spermatozoa epididimis sapi PO adalah 0,9705. Hal ini menunjukkan adanya hubungan yang erat antara lama penyimpanan dan keutuhan membran plasma spermatozoa. Perpanjangan waktu penyimpanan akan menurunkan nilai persentase keutuhan membran plasma spermatozoa. Namun demikian, pada hari kedua penyimpanan nilai persentase keutuhan membran plasma masih berada di atas standard minimal (41.00%) yang dipersyaratkan untuk tujuan inseminasi buatan.

Hubungan Lama Penyimpanan dengan Persentase Sitoplasma Droplet Spermatozoa

Nilai rata-rata persentase sitoplasma droplet spermatozoa epididimis sapi PO yang digunakan pada penelitian ini adalah 13,867. Hubungan lama penyimpanan dengan persentase sitoplasma droplet dapat dilihat pada gambar 4.

Gambar 4. Hubungan lama penyimpanan dengan sitoplasma droplet spermatozoa



Grafik pada Gambar 4. menunjukkan bahwa koefisien determinasi spermatozoa epididimis sapi PO adalah 0,0899. Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada hubungan antara

lama penyimpanan dengan persentase sitoplasma droplet pada spermatozoa. Jumlah spermatozoa yang memiliki sitoplasma droplet sejak hari pertama hingga hari keempat hanya mengalami kenaikan kecil dan cenderung konstan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pembahasan dapat disimpulkan bahwa:

1. Kualitas spermatozoa cauda epididimis semakin menurun sejalan dengan penambahan waktu penyimpanan, sedangkan persentase sitoplasma droplet tidak berhubungan dengan lama penyimpanan.
2. Penyimpanan spermatozoa epididimis pada suhu 3-5°C maksimal dilakukan dua hari.

DAFTAR PUSTAKA

- Partodihardjo S., 1980. *Ilmu Reproduksi Hewan*. PT. Mutiara. Jakarta.
- 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. Bogor.
- Saili T., 2006. *Morfologi dan Integritas DNA Spermatozoa Domba Setelah Diawetkan dengan Metode Pengerimbekuan*. Disertasi Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Steel RGD, Torrie JH. 1993. *Prinsip dan Prosedur Statistika, Suatu Pendekatan Biometrik*. Terjemahan Sumantri B. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Toelihere, M.R., 1985. *Inseminasi Buatan pada Ternak*. Angkasa. Bandung.
-, 1993. *Inseminasi Buatan pada Ternak*. Angkasa. Bandung.