

PENGARUH PENGECER EKSTRAK AIR TEBU DENGAN PENAMBAHAN KUNING TELUR TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA SAPI BALI

P. ANWAR, Y. S. ONDHO DAN D. SAMSUDEWA

*Faculty of Agricultural and Animal Sciences, Diponegoro University,
Campus Tembalang, Semarang 50275
E-mail: pajri_anwar@yahoo.co.id*

ABSTRACT

This study aims to determine the motility and livability of the Bali bull semen with filtered sugarcane juice and the addition of egg yolk and preserved at a temperature of 5°C. Semen used in this study was taken from four tested quality semen from Bali bull. The components of the extender used in this study are ; filtered sugarcane juice, egg yolk, distilled water and the antibiotic Streptomycin and penicillin. The material used in this study were ; four selected Bali cattle which were observed to have quality semen ; the extender used consisted of extracted sugar cane juice, egg yolks, distilled water and antibiotics. A completely randomized design (CRD) was used consisted of four treatments and 4 replications. The treatments applied were as follows ; T1 (10% extracted sugar cane juice + 20% egg yolk + 70% distilled water); T2 (15% extracted sugar cane juice + 20% egg yolk + 65% distilled water); T3 (20% extracted sugar cane juice + 20% egg yolk + 60% distilled water); T4 (25% extracted sugar cane juice + 20% egg yolk + 55% distilled water). The results showed that there were no significant effect ($P>0.05$) between treatments under different extender concentration levels and preservation days at a temperature of 5°C for motility and livability. Based on the results of this study, it can be concluded that the quality of Bali cattle's liquid semen during the six days of preservation at 5°C is above the average of 40% for the motility and livability. Among the various treatments the concentration of 25% extracted sugar cane juice with the addition of 20% egg yolk (T4) produced the best result.

Keywords: bali cattle, sperm, extracts sugarcane juice, egg yolks, extender.

PENDAHULUAN

Tingkat keberhasilan Inseminasi Buatan (IB) sangat dipengaruhi oleh kualitas spermatozoa. Kualitas spermatozoa setelah penampungan akan mengalami penurunan apabila tidak segera diproses menjadi semen cair atau semen beku. Bahan pengencer yang baik adalah murah, sederhana, praktis dibuat dan memiliki daya preservasi yang tinggi. Syarat setiap bahan pengencer adalah harus dapat menyediakan nutrisi bagi kebutuhan spermatozoa selama penyimpanan serta harus memungkinkan spermatozoa dapat bergerak secara progresif, memperbanyak jumlah volume semen, tidak bersifat racun bagi spermatozoa, menjadi penyanggah bagi spermatozoa, mempertahankan tekanan osmotik atau pun keseimbangan elektrolit, dan dapat melindungi spermatozoa dari kejutan dingin (*cold shock*) baik untuk semen beku maupun semen yang tidak dibekukan (Parerah *et al.*, 2009).

Salah satu alternatif pembuatan bahan pengencer yang alami, mudah didapat, tersedianya nutrisi yang dibutuhkan serta memenuhi standar syarat-syarat pengencer semen adalah dengan memanfaatkan ekstrak air tebu dengan kuning telur. Kandungan ekstrak air tebu murni mengandung sukrosa 18,08% dan gula invest 0,54%; yang mana kandungan nutrisi ini lebih tinggi dari kandungan nutrisi lainnya yang terdapat dalam air tebu (Erwinda *et al.*, 2014). Sukrosa dalam hal ini berfungsi sebagai substrat sumber energi dan sekaligus sebagai krioprotektan ekstraseluler terhadap perubahan suhu, sehingga dapat melindungi dan menunjang kehidupan spermatozoa selama proses pengolahan dan penyimpanan (Rizal *et al.*, 2007).

Sukrosa telah terbukti mampu memperbaiki kualitas semen, seperti pemanfaatan sukrosa sebagai krioprotektan ekstraseluler ke dalam pengencer dapat meningkatkan kualitas spermatozoa epididimis kerbau belang

setelah thawing (Rizal *et al.*, 2007). Penambahan sukrosa dalam pengencer andromed dapat mempertahankan kualitas semen cair epididimis kerbau belang (Surachman *et al.*, 2009) serta pemanfaatan jenis gula lain yang ditambahkan dalam pengencer berhasil memperbaiki kualitas semen domba garut (Rizal *et al.*, 2006), efek pemberian gula terhadap karakteristik semen kambing Boer setelah dibekukan (Nainga *et al.*, 2010), trehalosa dan EDTA pada semen beku domba (Aisen *et al.*, 2000 dan Aisen *et al.*, 2002), serta efek protektif terhadap taurine, glutathione, trehalosa pada semen domba (Bucak dan Tekin, 2007), pengaruh pemberian suplementasi trehalosa pada kualitas semen sapi setelah thawing (Hu *et al.*, 2010)

Keunggulan kuning telur terletak pada lipoprotein dan lesitin yang bekerja mempertahankan dan melindungi intensitas selubung lipoprotein dan sel spermatozoa dari keadaan penurunan suhu dingin yang tiba-tiba serta menstabilkan membran plasma (Widjaya, 2011). Pengaruh perlindungan lipoprotein dihasilkan dari pengikatan lipoprotein pada membran spermatozoa, sehingga membran plasma tetap stabil saat melalui zona temperatur kritis (Tambing *et al.*, 2008). Penggunaan kuning telur dalam pengencer telah banyak dilaporkan oleh peneliti. Pengaruh kombinasi kuning telur dengan air kelapa nyata meningkatkan kualitas semen domba Priangan dan semen beku sapi potong (Qomariyah *et al.*, 2001 dan Anggraeny *et al.*, 2004), pengaruh seminal plasma dengan konsentrasi kuning telur pada semen cair sapi FH (Kusumaningrum *et al.*, 2004) serta perbandingan pengencer pemberian sukrosa, NaCl dengan kuning telur terhadap semen beku Cana Toad (Browne *et al.*, 2002), kualitas semen beku kerbau terhadap efek berdasarkan pemberian kuning telur (Reddy *et al.*, 2010).

Keunggulan yang dimiliki dari dua bahan pengencer tersebut sebagai mana dapat diketahui bahwa keunggulan utama ekstrak air tebu mengandung sukrosa berupa pemecahan dua unit monosakarida yaitu glukosa dan fruktosa yang berhubungan dengan ikatan Glikolisis atau Siklus Krebs yang menghasilkan ATP dan ADP yang berfungsi sebagai energi pergerakan dan sekaligus sebagai kriprotektan intraseluler. Kuning telur mengandung lipoprotein dan lesitin berfungsi sebagai perlindungan membran sel spermatozoa. Bahan-bahan ini merupakan sumber energi bagi spermatozoa untuk pergerakan serta perlindungan spermatozoa terhadap efek kejutan dingin dari perubahan penurunan suhu. Pada penelitian ini diuji pengaruh pengencer ekstrak air tebu dengan penambahan kuning telur sebagai upaya mempertahankan kualitas spermatozoa sapi Bali yang dipreservasi pada suhu 5°C.

MATERI DAN METODE

Koleksi semen

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret 2014 di Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) Singosari Jawa Timur. Semen yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari empat ekor Sapi Bali terseleksi. Syarat semen yang digunakan untuk pembuatan pengencer minimal 60% motil, kosentrasi ± 1.000 juta spermatozoa/ml dan abnormalitas 20%.

Media Pengencer

Bahan pengencer utama yang digunakan adalah ekstrak air tebu dengan kuning telur, jenis tebu yang digunakan varietas PS 862 berumur ± 11 bulan (Tabel.1). Perbandingan bahan pengencer sebagai berikut :

Tabel 1. Kandungan pengencer dalam 100 ml yang digunakan sebagai perlakuan.

Kandungan Pengencer	Kadar			
	T1	T2	T3	T4
Kadar Sukrosa (%)	1,88	2,82	3,76	4,70
Kadar Gula Invert (%)	0,05	0,08	0,11	0,14
Lemak (%)	6,60	6,60	6,60	6,60
Protein (%)	3,48	3,48	3,48	3,48
Penisilin (1000 ug/ml)	1000,00	1000,00	1000,00	1000,00
Streptomisin (1000 µg/ml)	1000,00	1000,00	1000,00	1000,00

Semen yang telah memenuhi syarat pengencer dibagi ke dalam enam belas buah tabung reaksi dengan konsentrasi 30 jt/ml tiap perlakuan. Semen diencerkan dengan pengencer sesuai perlakuan yang digunakan, yaitu T1 : 10% Air tebu + Kuning telur 20%, T2 : 15% Air tebu + Kuning telur 20%, T3 : 20% Air tebu + Kuning telur 20%, T4 : 25% Air tebu + Kuning telur 20%, kemudian dilarutkan dalam akuabides hingga mencapai volume 100 ml, kemudian ditambahkan antibiotik (penisilin dan streptomisin) masing-masing sebanyak 1.000 µg per ml pengencer. Selanjutnya tabung reaksi ditutup rapat kemudian dimasukkan ke dalam gelas piala yang berisi air dengan suhu 20°C yang bertujuan untuk penurunan suhu secara perlahan-lahan dan dipreservasi pada suhu 5°C selama enam hari.

Kualitas Spermatozoa yang Dievaluasi

Kualitas spermatozoa yang dievaluasi pada tahap spermatozoa segar adalah : volume semen, warna, bau, pH, konsentrasi spermatozoa, persentase motilitas, persentase livabilitas, persentase abnormal, selanjutnya evaluasi terhadap spermatozoa yang telah diencerkan dan dipreservasi meliputi : persentase spermatozoa motilitas, persentase livabilitas, dan persentase abnormalitas spermatozoa.

Progresif motilitas adalah penilaian spermatozoa yang bergerak maju ke depan secara progresif. Tahap penilaian satu tetes sampel semen diteteskan di atas objek glass dan ditutup dengan cover glass kemudian ditempatkan di atas

papan pemanas 37°C yang langsung terpasang pada mikroskop geser. Penilaian spermatozoa motil dilakukan pada tiga lapang pandang yang berbeda dengan mikroskop dengan pembesaran 400x untuk masing-masing semen sampel. Rata-rata dari tiga penilaian berturut dicatat sebagai skor akhir motilitas (Bucak *et al.*, 2007).

Persentase spermatozoa hidup ditentukan dengan menghitung persentase spermatozoa yang hidup setelah pewarnaan dengan 2% eosin yaitu eosin 1,67 g dan sodium sitrat 2,9 g dilarutkan dalam dengan akuabides (Bucak *et al.*, 2007). Setetes sampel semen dengan dua tetes eosin diteteskan pada objek glass yang hangat kemudian diratakan. Spermatozoa yang hidup ditandai oleh kepala berwarna putih, sedangkan yang mati ditandai oleh kepala berwarna merah. Sebanyak minimum 200 spermatozoa dievaluasi dengan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x.

Analisis Data

Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) (Steel dan Torrie, 1991). Data yang dihasilkan dalam penelitian ini dianalisis ragam dengan uji F, jika terdapat pengaruh yang nyata, maka dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan untuk mengetahui perbedaan antara perlakuan. Kriteria pengambilan keputusan pada taraf kepercayaan 95% atau $\alpha = 0,05$ apabila F hitung > F tabel maka H_0 ditolak dan H_1 diterima. Data dianalisis menggunakan bantuan program SPSS 16.0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kualitas Semen Segar Sapi Bali

Evaluasi terhadap kuantitas dan kualitas semen segar dalam penelitian ini bertujuan untuk menentukan apakah semen tersebut layak atau tidak diproses lebih lanjut dan untuk mengetahui kadar pengenceran yang dibutuhkan. Hasil evaluasi kuantitas dan kualitas semen segar sapi Bali secara makroskopis dan mikroskopis diperoleh dalam penelitian ini menunjukkan karakteristik semen segar sapi Bali cukup memenuhi syarat untuk diolah menjadi semen cair atau semen beku (Tabel 2).

Hasil menunjukkan volume semen segar rata-rata diperoleh $6,30 \pm 3,32$ (kisaran 2,8-10,8 ml). Tingginya kisaran koleksi volume semen segar yang diperoleh disebabkan sapi Bali yang digunakan diambil dari semen segar sapi unggul dengan manajemen pemeliharaan dan pemberian pakan yang baik. Hal lain disebabkan sapi yang digunakan telah terlatih untuk ditampung semennya sehingga faktor stress kecil kemungkinan akan terjadi. Hasil penelitian ini tidak jauh berbeda dengan yang dilaporkan oleh Anwar (2011) dan Arifiantini *et al.* (2006) rata-rata volume semen segar sapi Bali berkisar $6,30 \pm 1,8$ ml.

Warna, konsistensi, gerakan massa, dan konsentrasi spermatozoa keempat peubah ini saling berkaitan, karena warna semen ditentukan oleh kepadatan spermatozoa dan juga akan termanifestasikan pada konsistensi semen dan gerakan massa spermatozoa. Hasil yang diperoleh warna rata-rata putih susu, konsistensi rata-rata sedang, gerakan massa rata-rata ++ (2+), dan konsentrasi spermatozoa rata-rata $1328.00 \pm 204,61$ juta/ml (kisaran 1.038-1.488 juta/ml). Hasil penelitian ini tidak jauh berbeda yang dilaporkan oleh Arifiantini *et al.* (2006) kualitas spermatozoa sapi bali warna krem, konsistensi rata-rata sedang, gerak massa rata-rata 2,7 (2+) dan konsentrasi

$1.340 \pm 447,85$ juta/ml. selanjutnya Labetubun *et al.* (2011) melaporkan konsentrasi semen segar kauda epididimis sapi Bali rata-rata 11.222,50 juta/ml berkisar 10.590-11.780 juta/ml.

Tabel 2. Karakteristik Semen Segar Sapi Bali

Karakteristik Semen	Rata-Rata
Volume	6,30±3,32
Warna	Putih susu
Konsistensi	Kental
pH	6,60±0,16
Konsentrasi	1328.00±204,61
Gerak Massa	2+
Motilitas	62.50±5,00
Livabilitas	74.75±3,86
Abnormalitas	11.25±2,75

Sumber . Data primer 2014

Rataan persentase motilitas spermatozoa sapi Bali yang diperoleh dalam penelitian ini adalah $62,50 \pm 5,0$ (kisaran 60-70%), persentase livabilitas spermatozoa $74,75 \pm 3,86$ (kisaran 70-80%) dan abnormalitas adalah $11,25 \pm 2,75$ (kisaran 8-14%). Tingginya persentase rata-rata livabilitas dari motilitas hal ini disebabkan banyaknya spermatozoa yang masih hidup tetapi dalam keadaan tidak bergerak progresif maju ke depan. Hasil dari beberapa penelitian menunjukkan persentase motilitas spermatozoa semen segar sapi Bali 71,04% (Arifiantini *et al.*, 2006), 72,40% motil dan 86,28% hidup (Bardan *et al.*, 2009), 75,00% motil, 86,00% hidup dan abnormal 10,5% (Rizal, 2009), selanjutnya motilitas spermatozoa pada kauda epididimis sapi Bali 75% dan livabilitas 86,75% (Labetubun *et al.*, 2011).

Motilitas Spermatozoa Sapi Bali Pasca Pengenceran di Preservasi Suhu 5°C.

Berdasarkan hasil penelitian motilitas spermatozoa sapi Bali pada pengamatan hari pertama setelah perlakuan yang dipreservasi pada suhu 5°C menghasilkan motilitas rata-rata 40%, hal ini menunjukkan penggunaan pengencer ekstrak air tebu dengan penambahan kuning telur memenuhi syarat untuk bahan

pengenceran semen Sapi Bali. Hasil persentase rata-rata motilitas spermatozoa Sapi Bali disajikan pada (Tabel 3).

Pada tahap pengamatan hari kedua sampai hari kelima setelah perlakuan semua perlakuan masih menghasilkan motilitas rata-rata di atas 40%, selanjutnya pengamatan hari keenam terlihat perlakuan T1 (10%) yaitu pemberian ekstrak air tebu menghasilkan motilitas di bawah 40% dibandingkan perlakuan T2 (15%), T3 (20%), dan T4 (25%).

Pada pengamatan waktu yang sama, nilai motilitas spermatozoa terbaik pada perlakuan T4 dengan rata-rata 46,23% dan diikuti nilai terbaik pada perlakuan T3 dan T2. Hal ini menunjukkan penggunaan konsentrasi ekstrak air tebu 15% sampai 25% dengan penambahan kuning telur 20% masih efektif mempertahankan kualitas spermatozoa sapi Bali di atas rata-rata 40% hingga enam hari preservasi pada suhu 5 °C.

Tabel 3. Pengaruh Perlakuan terhadap Motilitas Spermatozoa Sapi Bali Setelah Enam Hari Preservasi.

Perlakuan	Penyimpanan (Hari)						Rataan penurunan perhari
	1	2	3	4	5	6	
	%.....						%.....
T1	56,25	52,90	48,75	45,73	41,25	38,33	3,73
T2	55,85	53,75	50,40	47,50	44,55	40,83	3,03
T3	57,48	56,23	52,90	49,98	47,50	44,15	2,60
T4	58,75	57,50	54,58	52,08	49,58	45,40	2,71
Rata- Rata	57,08	55,09	51,66	48,82	45,72	42,18	

Keterangan. T1 : 10% ekstrak air tebu + 20% kuning telur ;
 T2 : 15% ekstrak air tebu + 20% kuning telur ;
 T3 : 20% ekstrak air tebu + 20% kuning telur ;
 T4 : 25% ekstrak air tebu + 20% kuning telur.

Berdasarkan hasil analisis statistik, taraf perlakuan konsentrasi pengencer yang diberikan dalam penelitian tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) terhadap motilitas spermatozoa sapi Bali dipreservasi pada suhu 5°C tahap pengamatan hari pertama hingga enam hari. Artinya penambahan taraf perlakuan tidak disertai perubahan peningkatan motilitas spermatozoa secara signifikan. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh kecilnya selisih pemberian perlakuan ekstrak air tebu. Selisih pemberian ekstrak air tebu tiap pembuatan pengencer semen antara perlakuan hanya 5% dari tiap pembuatan pengencer. Selisih tiap pemberian perlakuan ekstrak air tebu sebesar 5% atau sebanding dengan nilai 0,94% kadar sukrosa per 100 ml pengencer sehingga tidak tampak jelas pengaruh motilitas spermatozoa tiap perlakuan.

Berdasarkan hasil penelitian, taraf perlakuan konsentrasi pengencer yang preservasi pada hari pertama hingga hari keempat masih mempertahankan rata-rata motilitas 50% pada perlakuan T4 dengan konsentrasi 25% ekstrak air tebu, namun pada pengamatan hari yang sama pada konsentrasi 10% (T1), 15% (T2) dan 20% (T3) terjadi penurunan motilitas tetapi masih di atas rata-rata motilitas 40% hingga hari keenam preservasi, hanya saja pada perlakuan konsentari 10% tidak dapat mempertahankan motilitas 40% dengan rata-rata 38,33%. Perlakuan penggunaan ekstrak air tebu dengan penambahan 20% kuning telur yang menghasilkan nilai motilitas terbaik adalah pada perlakuan T4 (25%) dengan rata-rata 58,75-45,40% hingga hari keenam preservasi (Tabel 3). Masih tingginya tingkat motilitas spermatozoa disebabkan karena di dalam

ekstrak air tebu bukan hanya mengandung sukrosa tetapi juga mengandung gula invert berupa glukosa dan fruktosa yang dapat dimanfaatkan sebagai penambahan energi pergerakan spermatozoa. Hal lain diduga spermatozoa lebih menyukai sifat gugus atom yang lebih sederhana berupa glukosa dan fruktosa sebelum sukrosa dihidrolisis lebih lanjut untuk dimanfaatkan sebagai energi pergerakan. Menurut Toelihere (1993) spermatozoa akan lebih mudah menggunakan glukosa dalam metabolisme dibandingkan sumber energi lain yang terdapat dalam plasma semen. Selanjutnya Aisen *et al.* (2002) menjelaskan proses metabolisme spermatozoa dapat berlangsung dengan baik di dalam pengencer yang mengandung gula yang sudah didegradasi.

Berdasarkan waktu preservasi 5°C semen cair pada setiap hari pengamatan cenderung menurun secara bertahap. Penyimpanan semen cair pada suhu 5°C akan mengurangi kecepatan metabolisme spermatozoa sehingga hasil akhir metabolisme berupa asam laktat masih menunjukkan pH normal. Suhu normal 37°C spermatozoa akan bekerja aktif dalam kegiatan biomolekul kimia metabolisme substrat yang diperlukan untuk pergerakan sehingga hasil akhir dari metabolisme berupa peningkatan asam laktat, tingginya asam laktat akan menurunkan pH pengencer yang akan menyebabkan toksin bagi kehidupan spermatozoa. Hasil pengamatan terakhir dalam penelitian ini terbukti nyata menghasilkan pH normal 6,2, secara keseluruhan pH semen segar adalah 6,6 cenderung menurun, ini membuktikan kecepatan metabolisme spermatozoa pada suhu 5°C terjadi penurunan kecepatan metabolisme, namun tetap berlangsung.

Tingginya kualitas motilitas spermatozoa pada tahap preservasi hari keenam kemungkinan disebabkan gula sukrosa yang terdapat dalam ekstrak air

tebu masih cukup tersedia sumber nutrisi, dimana sukrosa yang termasuk dalam golongan disakarida yang terdiri dari dua unit glukosa dan fruktosa yang terhubung dalam ikatan glikosida yang menghasilkan energi berupa ATP yang akan dimanfaatkan oleh spermatozoa dalam pergerakan. Tingginya kualitas spermatozoa diduga disebabkan adanya kuning telur yang dapat bekerja secara sinergis dengan sukrosa dalam ekstrak air tebu. Keberadaan sukrosa dalam ekstrak air tebu tidak hanya sebagai penyedia substrat energi tetapi sekaligus krioprotektan ekstraseluler yang aktif melindungi membran spermatozoa dari kerusakan selama penyimpanan pada suhu rendah. Surachman *et al.* (2008) melaporkan sukrosa dalam pengencer dapat berfungsi sebagai krioprotektan ekstraseluler sehingga melindungi membran plasma sel dari kerusakan secara mekanis yang mungkin terjadi saat proses pendinginan.

Keberadaan kuning telur dalam pengencer dapat menstabilkan sifat semipermeabel membran dan berperan aktif dalam perlindungan membran sel. Terlindungnya membran sel akan berpengaruh positif terhadap motilitas spermatozoa. Moussa *et al.* (2002) dan Munoz *et al.* (2009) melaporkan pengaruh perlindungan dari *Low Density Lipoprotein* (LDL) dari kuning telur nyata meningkatkan motilitas spermatozoa. Junior *et al.* (2009) dan Jian *et al.* (2010) menyatakan krioprotektan yang terdapat dalam kuning telur akan mengikat gugus pusat *phospholipid* membran yang berfungsi mengatasi ketidakstabilan membran serta menggantikan bagian *phospholipid* dan kolesterol dari membran sel spermatozoa yang rusak. Hasil lain yang dilaporkan oleh Silva *et al.* (2011) pemberian optimal dalam media pengencer dengan konsentrasi 20% kuning mempertahankan kualitas spermatozoa setelah diperiksa *post thawing* pada semen monyet ekor panjang.

Livabilitas Spermatozoa Sapi Bali Pasca Pengenceran di Preservasi Suhu 5°C

Berdasarkan hasil penelitian livabilitas spermatozoa sapi Bali pada tahap pengamatan hari pertama hingga hari ke empat pengamatan semua taraf perlakuan menunjukkan persentase livabilitas yang cukup tinggi yaitu di atas rata-rata 60%, tetapi pada taraf perlakuan konsentrasi 10% (T1) terjadi penurunan di bawah rata-rata 60%. Pengamatan hari kelima masih ada perlakuan menunjukkan livabilitas di atas rata-rata 60%, yaitu perlakuan 25% (T4) dengan rata-rata 60,25%, selanjutnya pada pengamatan hari yang sama, perlakuan T1, T2, dan T3 penggunaan ekstrak air tebu terjadi penurunan rata-rata livabilitas dan diikuti pada hari ke enam, tetapi penurunan livabilitas spermatozoa terjadi secara bertahap (Tabel 4).

Berdasarkan hasil analisis statistik, taraf perlakuan konsentrasi pengencer yang diberikan dalam penelitian tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) terhadap livabilitas spermatozoa Sapi Bali

dipreservasi pada suhu 5 °C tahap pengamatan hari pertama hingga hari ke enam. Tidak adanya pengaruh perlakuan dalam penelitian ini, artinya penambahan taraf perlakuan tidak disertai perubahan peningkatan livabilitas spermatozoa yang signifikan. Hal ini kemungkinan disebabkan faktor penyaringan mikron yang dilakukan sebagian besar jumlah sukrosa ikut tersaring sehingga kandungan air dalam ekstrak air tebu lebih banyak. Livabilitas akan menunjukkan peningkatan yang signifikan apabila selisih pemberian konsentrasi ekstrak air tebu dibuat lebih besar. Spermatozoa akan lebih aktif progresif dan akan lebih bertahan lama apabila jumlah nutrisi yang terkandung dalam pengencer selalu tersedia untuk pergerakan. Pramono dan Tagama (2005) dan Rizal *et al.* (2006) motilitas spermatozoa sangat tergantung pada suplai energi berupa *Adenosine Triphosphat* (ATP) hasil metabolisme.

Tabel 4. Pengaruh perlakuan terhadap livabilitas spermatozoa Sapi Bali setelah enam hari preservasi.

Perlakuan	Penyimpanan (Hari)						Rataan penurunan Perhari
	1	2	3	4	5	6	
%.....					%.....
T1	68,50	63,25	60,75	58,00	54,50	52,25	3,38
T2	66,75	65,00	62,75	61,75	57,25	53,75	3,00
T3	68,25	65,00	64,25	63,25	59,75	55,75	2,88
T4	69,00	66,75	65,75	64,50	60,25	57,00	2,69
Rata- Rata	68,13	65,00	63,38	61,88	57,94	54,69	

Hasil penelitian menunjukkan semakin ditingkatkan pemberian konsentrasi ekstrak air tebu spermatozoa berpengaruh lebih baik terhadap hidup spermatozoa, hal ini menjelaskan bahwa spermatozoa dapat memanfaatkan sukrosa dari ekstrak air tebu dalam metabolisme sebagai penunjang energi pergerakan. Yulnawati dan Herdis (2009) menyatakan dalam penelitian dari berbagai jenis hewan dan ternak yang menggunakan gula sebagai krioprotektan ekstraseluler dan substrat

energi alternatif. Sukrosa adalah golongan disakarida yang dapat dipecah oleh spermatozoa sehingga menghasilkan dua unit monosakarida yaitu glukosa dan fruktosa yang berhubungan dua siklus metabolisme yaitu siklus Krebs dan siklus glikolisis yang memecah ikatan dua unit monosakarida menjadi *Adenosine Triphosphat* (ATP) dan *Adenosine Diphosphat* (ADP) yang dimanfaatkan sebagai energi pergerakan. Hasil penelitian yang menggunakan berbagai

pemanfaatan jenis gula pada kualitas spermatozoa berbagai jenis ternak menunjukkan nyata meningkatkan persentase livabilitas spermatozoa. Penambahan sukrosa dalam pengencer Andromet nyata meningkatkan persentase livabilitas epididimis Kerbau Belang (Rizal *et al.*, 2007), kualitas spermatozoa epididimis Kerbau Belang dengan penambahan suplemen dextrose (glukosa) nyata meningkatkan motilitas dan integritas membran spermatozoa (Yulnawati *et al.*, 2010). Viabilitas spermatozoa Rusa Timor, sumber karbohidrat nyata meningkatkan kualitas spermatozoa (Nalley *et al.*, 2007).



Gambar 1. Livabilitas spermatozoa Sapi Bali setelah di preservasi
(Kuning : Spermatozoa Mati ;
Biru : Spermatozoa Hidup)
(Dokumentasi Penelitian 2014).

Perlakuan konsentrasi pengencer hasil penelitian tiap taraf perlakuan memberikan kontribusi nilai terbaik. Livabilitas spermatozoa sapi Bali dapat dilihat pada (Gambar 1). Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui setiap perlakuan pengencer yang digunakan dapat mempertahankan livabilitas spermatozoa hingga hari keenam preservasi dengan nilai rata-rata 50%. Perlakuan penggunaan ekstrak air tebu dengan penambahan 20% kuning telur yang menghasilkan nilai terbaik adalah

perlakuan T4 dengan rata-rata 57%-69% hingga hari ke enam preservasi. Hasil penelitian yang menggunakan berbagai pemanfaatan jenis gula pada kualitas spermatozoa berbagai jenis ternak menunjukkan nyata meningkatkan persentase livabilitas spermatozoa. Penambahan sukrosa dalam pengencer Andromet nyata meningkatkan persentase livabilitas epididimis Kerbau Belang (Rizal *et al.*, 2007), kualitas spermatozoa epididimis kerbau Belang dengan penambahan suplemen dextrose (glukosa) nyata meningkatkan kualitas spermatozoa dan integritas membran spermatozoa (Yulnawati *et al.*, 2010). Viabilitas spermatozoa rusa Timur dengan sumber karbohidra nyata meningkatkan kualitas spermatozoa (Nalley *et al.*, 2007), maltose memberikan pengaruh yang positif terhadap kualitas semen cair domba Garut (Herdis *et al.*, 2005). Selanjutnya Labetubun *et al.* (2011) jenis gula halnya laktosa dan maltosa berperan sebagai senyawa krioprotektan ekstraseluler membantu menstabilkan dan kerusakan membran plasma spermatozoa selama masa transisi melewati zona suhu yang kritis, serta mengubah sifat mekanis pengencer melalui peningkatan viskositas.

Berdasarkan hasil penelitian pemberian konsentrasi ekstrak air tebu tiap taraf perlakuan terhadap lama penyimpanan selama enam hari pengamatan menunjukkan livabilitas spermatozoa terjadi penurunan secara bertahap dengan rata-rata sebesar 3,38% (T1), 3,00% (T2), 2,88% (T3) dan 2,69% (T4) perhari (Tabel 6). Penurunan livabilitas spermatozoa kemungkinan disebabkan rusaknya membran spermatozoa akibat terbentuknya peroksidasi lipid. Yulnawati *et al.* (2010) menjelaskan kerusakan membran menyebabkan terganggunya metabolisme spermatozoa sehingga akan terjadi penurunan motilitas spermatozoa dan akhirnya akan mempengaruhi daya tahan hidup spermatozoa. Nilai persentase livabilitas spermatozoa ini

biasanya lebih tinggi dari pada persentase motilitas. Hal ini disebabkan karena spermatozoa yang tidak progresif tapi masih dalam keadaan hidup sehingga tidak akan menyerap warna dari larutan eosin 2% yang digunakan. Hasil penelitian ini tidak jauh berbeda yang dilaporkan oleh Bardan *et al.* (2009) dimana pemberian air tebu yang dikombinasikan dengan kuning telur 108 jam penyimpanan pada suhu 5°C dengan nilai rata-rata 44,45-56,62%.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan pengencer menggunakan ekstrak air tebu dengan penambahan 20% kuning telur dapat mempertahankan motilitas dan livabilitas spermatozoa di atas rata-rata 40% hingga enam hari preservasi suhu 5°C. Hasil perlakuan pengencer yang terbaik yang dapat digunakan sebagai semen cair sapi Bali untuk Inseminasi Buatan adalah perlakuan konsentrasi 25% ekstrak air tebu dengan penambahan 20% kuning telur.

DAFTAR PUSTAKA

- Aisen EG., H. L. Alvarez., A. Venturino., dan J. J. Garde. 2000. Effect of Trehalose and EDTA on Cryoprotective Action of Ram Semen Diluents. *Theriogenology*. **53**:1053-1061.
- Aisen. E.G., H.L. Alvarez., dan A. Venturino. 2002. Cryopreservation and Post Thawed Fertility of Ram Semen Frozen In Different Trehalose Concentration. *Theriogenology* **57**: 1801-1808.
- Anwar, P. 2011. Motilitas dan Viabilitas Semen Sapi Bali yang Diencerkan dengan Pengenceran Air Tebu yang Berbeda. Skripsi. Fakultas Pertanian dan Peternakan Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau. Pekanbaru.
- Arifiantini, RI., T. Wresdiyanti., dan EF. Retnani. 2006. Kajian Bandingan Morfometri Spermatozoa Sapi Bali (*Bos Sondaicus*) Menggunakan Perwarnaan Williams, Eosin, Eosin Nigrosin dan Formol Saline. *J.Sain Vet.* **24** (1): 65-70.
- 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.
- Bucak. M. N., dan N. Tekin. 2007. Protective effect of taurine, glutathione and trehalose on the liquid storage of ram semen. *Small Ruminant Research* **73**: 103-108
- Erwinda, M. D., dan Wahono. H. S. 2014. The Effect of Lime Concentration Addition and Cane Juice pH Value on Brown Sugar Quality. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. **2** (3) : 54 - 64.
- Herdis., M.R. Toelihere., I. Supriatna., B. Purwantara, dan RTS. Adikara. 2005. Optimalisasi Kualitas Semen Cair Domba Garut (*Ovis Aries*) Melalui Penambahan Maltosa ke dalam Pengencer Semen Tris Kuning Telur. *Jurnal Media Kedokteran Hewan*. **21** (2): 88-93
- Hu. J.H., L. S. Zan., X. L. Zhao., Q. W. Li., Z. L. Jiang., Y. K. Li., and X. Li. 2010. Effects of Trehalose Supplementation on Semen Quality and Oxidative Stress Variables in Frozen Thawed Bovine Semen. *J Anim Sci*, **88**: 1657-1662.
- Jian. H.H., Q. W. Li., L. S. Zana., Z. L. Jianga., J. H. Ana, L. Q. Wang., dan Y. H. Jia. 2010. The Cryoprotective Effect of Low-Density Lipoproteins in Extenders on Bull Spermatozoa Following Freezing-Thawing. *Animal Reproduction Science* **117**: 11-17.
- Junior. A.S. V., C.D. Corcini., R.R. Ulguim., M.V.F. Alvarenga, I. Bianchi., M.N. Corrêa., T. Lucia Jr., J.C. Deschamps. 2009. Effect of Low Density Lipoprotein on The Quality of Cryopreserved Dog Semen. *Animal Reproduction Science* **115**: 323-327
- Kusumaningrum. D.A., E. Triwulanningsih., P. Situmorang., T. Sugiarti., dan R.G. Sianturi. 2004. The Effect of Seminalo on the Quality of Diluted Semen Stored at Room

- Temperature. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner : 207-213.
- Labetubun J., dan I.P. Siwa. 2007. Kualitas Spermatozoa Kauda Epididimis Sapi Bali dengan Penambahan Laktosa atau Maltosa yang Dipreservasi pada suhu 3-5°C. *Jurnal Veteriner*. **12** (3) : 200-207.
- Moussa M., V. Marinet., A. Trimeche., D. Tainturier., Dan M. Anton. 2002. Low Density Lipoproteins Extract From Hen Egg Yolk by an Easy Method: Cryoprotective Effect on Frozen-Thawed Bull Semen. *Theriogenology* **57**: 1695-1706.
- Munoz. O. V., L. A. Briand., T. Diaz., L. V. Squez., E. Schmidt., S. Desherces., M. Anton., D. Bencharif., dan D. Tainturier. 2009. Effect of Semen Dilution to Low-Sperm Number Per Dose on Motility and Functionality of Cryopreserved Bovine Spermatozoa Using Low-Density Lipoproteins (LDL) Extender : Comparison To Triladyl1 And Bioxcell. *Theriogenology* **71**: 895-900.
- Nalley. W. M. M., R. Hamdarini., dan B. Purwantari. 2007. Viabilitas Spermatozoa Rusa Timur (*Cervus Timorensis*) di dalam Pengencer Tris Kuning Telur dengan Penambahan Sumber Karbohidrat Berbeda yang Disimpan pada Suhu Ruang. *JITV*. **14**(4): 311-317.
- Nainga. S.W., H. Wahida., K. M. Azamc., Y. Rosninaa., A.B. Zukib., S. Kazhala., M.M. Bukara., M. Theind, T. dan, M.M. S. Kyawe. 2010. Effect of sugars on characteristics of Boer goat semen after Cryopreservation. *Animal Reproduction Science* **122**: 23-28.
- Pramono. E., dan T. R. Tagama. 2005. Pengaruh Penambahan Adenosin Triphospat ke dalam Pengencer Semen terhadap Kualitas Spermatozoa Domba Ekor Gemuk. *Animal Production* **10**(3): 151-156.
- Parerah, F., Z. Prihatiny., D.F. Souhoka, dan M. Rizal. 2009. Pemanfaatan Sari Wortel sebagai Pengencer Alternatif Spermatozoa Epididimis Sapi Bali. *J. Indon. Trop. Anim. Agric.* **34** (1): 50-56.
- Qomariyah. S. Mihardja., dan R. Idi. 2001. The Effect of Combination Egg Wolk with Coconut Water on Viability and Abnormality of Priangan Sheep Spermatozoa Stored at 5°C. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner : 173-178.
- Reddy. N. S. S., G. J. Mohanarao., dan S.K. Atreja. Effects of Adding Taurine and Trehalose To a Tris-Based Egg Yolk Extender on Buffalo (Bubalus Bubalis) Sperm Quality Following Cryopreservation. *Animal Reproduction Science*, **119**:183-190.
- Rizal M. 2009. Daya Tahan Spermatozoa Epididimis Sapi Bali yang Dipreservasi pada Suhu 3-5°C dalam Pengencer Tris dengan Konsentrasi Laktosa yang Berbeda. *JITV* **14**(2): 142-149.
- Rizal M., Herdis., A. Boediono., AS. Aku, dan Yulnawati. 2006. Peranan beberapa jenis gula dalam meningkatkan kualitas semen beku domba Garut. *J Ilmu Ternak dan Veteriner*. **11**: 123-130.
- Rizal M, Herdis, Yulnawati, dan H. Maheshwari. 2007. Peningkatan kualitas spermatozoa epididimis kerbau belang yang dikriopreservasi dengan beberapa konsentrasi sukrosa. *Jurnal Veteriner*. : 188-193.
- Steel, R.G.D, dan H.Torrie. 1995. Prinsip dan Prosedur Statistik. Terjemahan; B.Sumantri. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Surachman M., Herdisa., Yulnawati., M. Rizalc., dan H. Maheshwari. 2008. Kualitas Semen Cair Asal Epididimis Kerbau Belang dalam Bahan Pengencer Andromed yang Mendapat Penambahan Sukrosa. *Media Peternakan*. **32** (2) : 88-94.
- Silva. M.A., G.C.X. Peixoto., G.L. Lima., J.A.B. Bezerra., L.B. Campos., A.L.C. Paiva., V.V. Paula and A.R. Silva. 2012. Cryopreservation of collared peccaries (Tayassu tajacu) semen using a powdered coconut water (ACP-116c) based extender plus various concentrations of egg yolk and glycerol. *Theriogenology* **78**: 605-611.

Tambing, S.N., K. Utama dan M. Sariubang. 2008. Efektivitas Konsentrasi Kuning Telur di dalam Pengencer Tris dengan dan Tanpa Plasma Semen terhadap Kualitas Semen Beku Kambing Saanen. *JITV* **13**(4): 315-322.

Toelihere, R.M. 1993. *Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Penerbit Angkasa Bandung

Widjaya, N. 2011. Pengaruh Pemberian Susu dengan Pengencer Tris Kuning telur Terhadap Daya tahan Hidup Spermatozoa Sapi pada suhu Penyimpanan 5°C. *Jurnal Sain Peternakan* **9** (2) : 72-76.

Yulnawati, M. Gunawan, H. Maheshwari, M. Risal, Herdis, dan A. Boediono. 2010. Quality of Epididimis and Ejaculated Sperms of Spotted Buffalo In Dextrose Supplemented Extender. *J. Biosciences*.