

**KUALITAS MEMBRAN PLASMA UTUH DAN TUDUNG AKROSOM UTUH
SPERMATOZOA SAPI BALI DIPRESERVASI SUHU 5 °C DALAM PENGECER
EKSTRAK AIR TEBU DENGAN PENAMBAHAN KUNING TELUR**

**QUALITY OF MEMBRANE PLASMA AND ACROSOME INTEGRITY OF BALI BULL
PRESERVED AT 5°C IN EXTENDER SUGAR CANE EXTRACT AND ADDITION
OF EGG YOLK**

Pajri Anwar¹⁾, Y. S. Ondho²⁾ dan D. Samsudewa³⁾
pajri_anwar@yahoo.co.id

¹⁾ Mahasiswa Program Studi Magister Ilmu Ternak Universitas Diponegoro,

²⁾ Dosen Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kualitas membran plasma utuh (MPU) dan tudung akrosom utuh (TAU) Sapi Bali dalam pengencer ekstrak air tebu dengan Penambahan kuning telur yang dipreservasi pada suhu 5°C. Semen yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari empat koleksi semen sapi bali yang telah teruji kualitas semennya. Komponen Bahan pengencer yang dipergunakan adalah ekstrak air, kuning telur, akuabides, dan antibiotik streptomycin dan penicillin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa, tidak ada pengaruh yang nyata ($P>0,05$) antara pengaruh perlakuan setelah pengenceran dan selama enam hari preservasi pada suhu 5°C terhadap membran plasama utuh (MPU), tetapi mengakibatkan berbeda nyata ($p<0,05$) terhadap tudung akrosom utuh (TAU) spermatozoa sapi Bali pada hari ketiga sampai hari ke enam preservasi 5°C. Pengencer terbaik adalah konsentrasi 25% ekstrak air tebu (T4) dengan persentase MPU dan TAU selama enam hari perservasi 5°C masing-masing 69,00-59,75% dan 61,75-51,00%.

Kata Kunci : sapi bali, spermatozoa, ekstrak air tebu, kuning telur, MPU, TAU.

ABSTRACT

This study aims to determine the Membrane plasma and Acrosome integrity 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 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 plasma membrane integrity. On day three to six the acrosome integrity was significantly affected ($p<0.05$) when preserved at 5°C. The best extender concentration is the 25% aqueous extract of sugarcane (T4) with the percentage of Membrane plasma and Acrosome integrity for all the storage time (1-6 d) preservation at 5°C respectively from 69.00 to 59.75% and from 61.75 to 51.00%.

Keywords: bali bull, sperm, extracts sugarcane, egg yolks, membrane plasma and acrosome integrity

PENDAHULUAN

Media pengencer yang memenuhi standar syarat-syarat untuk spermatozoa harus menyerupai sifat fisik kimia semendan dapat mempertahankan penurunan suhu secara mendadak yang merupakan faktor utamapenyebab

terjadinya kejutan dingin (*cold shock*). Kejadian kejutandingin kemungkinan disebabkan fase transisi darimembran lipid yang menyebabkan terjadinya fasepemisahan dan penurunan sifat-sifat permeabilitas secara selektif dari membran biologik sel.

Pengaruh yang ditimbulkan akibat munculnya faktor ini adalah penurunan jumlah spermatozoa motil, pelepasan enzim, hilangnya aktivitas lesitin, perpindahan ion melewati membran penurunan kandungan lipid yang sangat berperan dalam mempertahankan integritas struktural membran plasma (Leboeuf *et al*, 2000). Kerusakan yang disebabkan perubahan suhu tersebut dapat dicegah dengan dimasukkan zat krioprotektan dalam pengencer. Salah satu krioprotektan yang paling banyak digunakan melalui penambahan konsentrat kuning telur dalam pengencer semen yang dapat memiliki efek negatif pada motilitas spermatozoa (Junior *et al*, 2010)

Efisiensi dari kuning telur sebagai krioprotektan yang dikaitkan dengan adanya Low Density Lipoprotein (LDL) yang berikatan dalam membran spermatozoa sehingga membentuk selaput antara asam lemak dan air (Bergeron *et al*, 2004). LDL ini akan menggantikan fosfolipid dan kolesterol dalam membran sel sewaktu terjadinya kerusakan sehingga mekanisme membran berfungsi dengan baik (Manjunath *et al*, 2002). Lesitin merupakan bagian dari low density lipoprotein berfungsi untuk mempertahankan dan melindungi integritas selubung lipoprotein spermatozoa. Pemberian 1% lesitin kacang kedelai dalam pengencer terbukti melindungi membran spermatozoa dengan menahan hilangnya fosfolipid pada kondisi *cold shock* (Salman *et al*, 2014).

Energi yang dibutuhkan oleh spermatozoa ini disediakan oleh gula sederhana yaitu fruktosa dan glukosa yang berguna untuk mendukung daya hidup spermatozoa pada tahap preservasi dan kriopreservasi. Kandungan ekstrak ekstrak air tebu murni mengandung sukrosa sebesar 18,08% dan monodisakarida sebesar 0,54% (Erwinda *et al*, 2014), yang mana

kandungan sukrosa yang terkandung dalam air tebu dimetabolisir melalui jalur glikolisis atau dilanjutkan dengan reaksi asam trikarboksilat (Siklus Krebs), sehingga dihasilkan energi berupa ADP dan ATP yang akan dimanfaatkan oleh spermatozoa dalam pergerakan (Pramono dan Taswin, 2008). Terlindunginya membran plasma spermatozoa dari pengaruh kuning telur ekstraseluler, maka mekanisme semipermeabel membran dapat berfungsi dengan baik sehingga kualitas metabolisme sukrosa dalam ekstrak air tebu dapat berjalan dengan baik dan berpengaruh positif terhadap pergerakan progresif yang aktif spermatozoa.

Dilihat dari pemikiran ini maka perlu penelitian tentang pengaruh perbandingan pengencer sukrosa dalam ekstrak air tebu dengan penambahan kuning telur terhadap kualitas membran plasma utuh dan tudung akrosom utuh spermatozoa Sapi Bali.

MATERI DAN METODE PENELITIAN

Koleksi Semen

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret 2014 Di Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) Singosari Jawa Timur. Semen yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari empat Sapi Bali terseleksi. Kualitas spermatozoa yang dievaluasi pada tahap spermatozoa segar adalah Volume semen, warna, bau, pH, konsentrasi spermatozoa, persentase motilitas, persentase livabilitas, persentase MPU dan Persentase TAU, selanjutnya evaluasi terhadap spermatozoa yang telah diencerkan dan dipreservasi meliputi: persentase MPU, dan persentase TAU spermatozoa.

Media Pengencer

Semen yang telah memenuhi syarat pengencer dibagi kedalam enam belas buah tabung reaksi dengan konsentrasi

30 jt/ml tiap perlakuan. Semen diencerkan dengan pengencer sesuai dengan perlakuan yang digunakan, yaitu T1 : 10% Air tebu + Kuning telur 20% + 70% akuabides; T2 : 15% Air tebu + Kuning telur 20% + 65% akuabides; T3 : 20% Air tebu + Kuning telur 20% + 60% akuabides; T4 : 25% Air tebu + Kuning telur 20% + 55% akuabides, kemudianditambahkan antibiotik (penisilin dan streptomisin) masing-masing sebanyak 1.000 ug per mililiter pengencer (table 1). selanjutnya tabung reaksi ditutup rapat dan dimasukkan kedalam gelas ukur yang berisi air dengan suhu 20°C yang bertujuan untuk penurunan suhu secara berlahan-lahan dan dipreservasi pada suhu 5°C selama enam hari. Selanjutnya kualitas membran plasma utuh dan tudung akrosom utuh diamati.

Variabel Penelitian

Persentase MPU spermatozoa ditentung dengan menghitung persentase spermatozoa yang memiliki membran plasma utuh dengan metode Osmotic Hypoosmotic Swelling Test (HOST) (Bucaket *al*, 2008). Komposisi larutan hipoosmotik terdiri atas: 0,9 g fruktosa + 0,49 g natrium sitrat yang dilarutkan dengan akuabides hingga mencapai

volume 100 ml. Sebanyak 300 µl larutan hipoosmotik ditambahkan ke dalam 30 µl semen, dicampur hingga homogen kemudian, dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 45 menit. Setelah di inkubasi, 0,2 ul ditetaskan diatas *glass objek* kemudian ditutup dengan *coper glass*, selanjutnya dievaluasi dengan mikroskop cahaya pembesaran 1000x terhadap minimum 200 spermatozoa. Spermatozoa yang memiliki membran plasma utuh ditandai oleh ekor melingkar atau menggelembung, sedangkan yang rusak ditandai oleh ekor lurus.

Tudung akrosom utuh (TAU) dievaluasi dengan metode pewarnaan eosin 2% yaitu eosin bluis 2 g dalam 100 ml sodium sitrat 2,9% (Toelihere, 1993) evaluasi kelainan akrosom diambil dari satu tetes semen kemudian dicampurnakan dengan eosin 2% dengan perbandingan satu banding empat. Selanjutnya di buat preparat ulas tipis dan dikeringkan diatas meja pemanas.persentase spermatosa akrosom utuh dengan menghitung Sebanyak 200 spermatozoa di bawah mikroskop fase kontras (1000x pembesaran). Spermatozoa yang memiliki tudung akrosom utuh ditandai dengan terlihatnya garis pembungkus pada bagian kepala dan garis cincin nukleus, sedangkan yang rusak tidak tedapatnya warna lebih gelap pada bagian atas kepala spermatozoa.

Tabel 1. Hasil Analisa Pengencer Ekstrak Air Tebu Penambahan Kuning Telur 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 (%)	0,057	0,086	0,114	0,143
Lemak (%)	6,60	6,60	6,60	6,60
Protein (%)	3,48	3,48	3,48	3,48
Penisilin (1000 µg/ml)	1000,00	1000,00	1000,00	1000,00
Streptomisin (1000 µg/ml)	1000,00	1000,00	1000,00	1000,00

Sumber: Data Primer yang Diolah 2013.

Tabel 2. Karakteristik Semen Segar Sapi Bali

Karakteristik Semen	Rata-Rata
Volume (ml)	6.30±3,32
Warna	Putih Susu
Konsistensi	Kental
Derajat Keasaman (pH)	6.60±0,16
Konsentrasi (10 ⁹ /ml)	1328.00±204,61
Gerak Massa	2+
Motilitas (%)	62.50±5,00
Livabilitas (%)	74.75±3,86
MPU (%)	72.00±2,71
TAU (%)	68.25±3,20

Sumber: Data Primer yang Diolah 2013.

Analisis data

Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) (Steel dan Torrie, 1991). Empat perlakuan dan empat ulangan, 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 ini menggunakan bantuan program SPSS 16.0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kualitas Semen Segar Sapi Bali

Hasil penelitian menunjukkan bahwa volume semen segara rata-rata diperoleh $6.30 \pm 3,32$, sedangkan warna, konsistensi, gerakan massa, dan konsentrasi spermatozoa 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 konsentasi $1340 \pm 447,85$ juta/ml. selanjutnya Labetubun *et al*, (2011) melaporkan konsentrasi semen segar kaudan epididimis sapi bali berkisar $11.222,50$ juta/ml berkisar antara rata-rata $10.590-11.780$ juta/ml.

Rataan persentase motilitas spermatozoa sapi bali yang diperoleh dalam penelitian ini rata-rata $62.50 \pm 5,0$, Persentase livabilitas spermatozoa yang diperoleh rata-rata $74.75 \pm 3,86$. Biasanya rata-rata motilitas spermatozoa lebih rendah dari livabilitas spermatozoa hal ini disebabkan banyaknya spermatozoa yang masih hidup tetapi dalam keadaan tidak bergerak progresif maju kedepan. Hasil dari beberapa penelitian menunjukkan bahwa persentase rata-rata motilitas spermatozoa semen segar sapi bali 71,04% (Arifiantini *et al*, 2006), 72,40% motil dan 86,28% hidup (Anwar, 2011 dan Bardan *et al*, 2009), 75,00% motil, 86,00% hidup (Risal, 2009), selanjutnya motilitas spermatozoa pada

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

Perlakuan	Penyimpanan (Hari)						Rataan Penurunan Perhari
	1	2	3	4	5	6	
 %%.....
T1	66.00	63.75	61.00	58.50	55.50	53.23	2.57
T2	66.25	65.50	62.75	60.50	57.25	55.00	2.25
T3	67.00	65.50	63.75	62.25	59.25	57.25	2.06
T4	69.00	67.25	65.75	64.50	61.50	59.75	2.00
Rata- Rata	67.06	65.50	63.31	61.43	58.37	56.31	

Sumber: Data Primer yang Diolah 2013.

kaudan epididimis sapi bali 75% dan livabilitas 86,75% (Labetubun *et al*, 2011).

Persentase Membran Plasma Utuh (MPU) rata-rata $72.00 \pm 2,71\%$ dan Persentase Tudung Akrosom Utuh (TAU) yang diperoleh rata-rata $68.25 \pm 3,20$. Hasil penelitian ini lebih tinggi yang dilaporkan oleh Rizal, (2009) dan Labetubun *et al*, 2011 menunjukkan bahwa membran plasma utuh semen segar sapi bali berkisar 85-86% dengan rata-rata 86,75%. Selanjutnya tidak jauh berbeda yang dilaporkan oleh Bardanet *al*, (2009) bahwa membran plasma utuh sapi Bali berkisar antara rata-rata 77,58%. Hasil penelitian pada ternak ruminansia besar lain yang dilaporkan oleh Amin *et al*, (2010) bahwa akrosom normal pada beberapa jenis semen segar kerbau berkisar pada rata-rata $93,28 \pm 1,66\%$. Perbedaan kualitas membran plasma utuh dan tudung akrosom utuh setiap penelitian diduga disebabkan perlakuan pakan yang diberikan, lingkungan tempat tinggal, umur ternak yang digunakan serta disebabkan penanganan saat evaluasi semen segar yang dilakukan.

Membran Plasma Utuh (MPU) Spermatozoa Sapi Bali Pasca Pengenceran di Preservasi Suhu 5°C.

Berdasarkan hasil penelitian Membran Plasma Utuh (MPU) spermatozoa Sapi Bali pada tahap pengamatan hari pertama

hingga hari keempat pengamatan dari semua perlakuan persentase MPU masih menunjukkan rata-rata yang cukup tinggi, yaitu di atas rata-rata 60%. Hasil persentase rata-rata MPU spermatozoa Sapi Bali disajikan pada (Tabel 3).

Berdasarkan hasil analisis statistik, taraf perlakuan konsentrasi pengencer yang diberikan dalam penelitian tidak berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap MPU spermatozoa Sapi Bali dipreservasi suhu 5°C pada tahap pengamatan hari pertama hingga hari keenam. Hal ini kemungkinan juga disebabkan oleh kecilnya selisih pemberian perlakuan ekstrak air tebu. Sehingga tidak tampak jelas pengaruh MPU spermatozoa tiap perlakuan. Walaupun tidak berbeda yang nyata di setiap taraf perlakuan penelitian dengan lama penyimpanan terhadap MPU, diketahui bahwa pada perlakuan T4 (25%) dapat mempertahankan rata-rata 60% MPU hingga hari kelima preservasi dengan rata-rata sebesar 61,5%, tetapi pada perlakuan T1 (10%), perlakuan T2 (15%) dan perlakuan T3 (20%) hanya dapat mempertahankan rata-rata 60% MPU hingga hari keempat preservasi suhu 5°C.

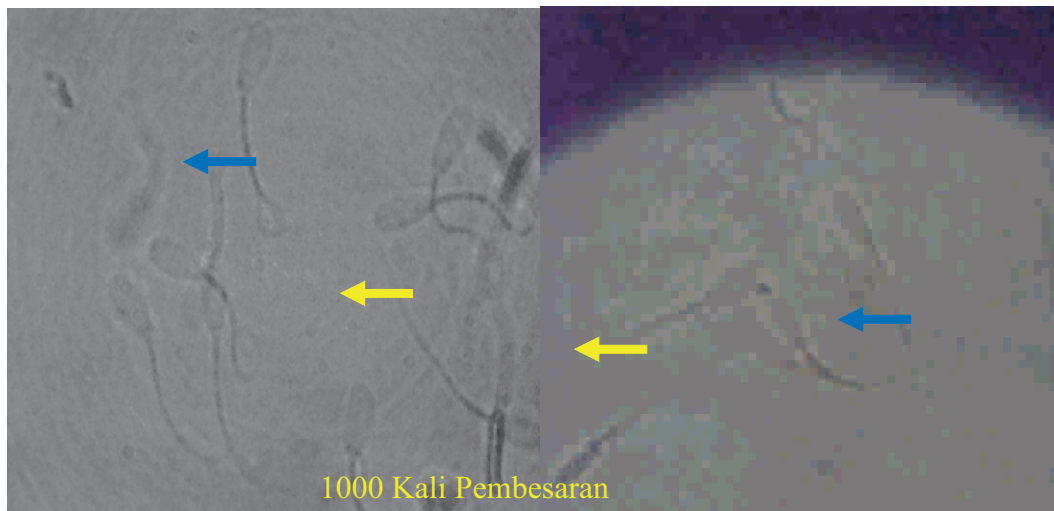
Berdasarkan hasil penelitian, taraf perlakuan penggunaan konsentrasi ekstrak air tebu dengan penambahan

20% kuning telur yang menghasilkan nilai terbaik dari ke empat perlakuan adalah perlakuan T4 (25%) dengan rata-rata MPU sebesar 59,75-69,00%, sedangkan persentase MPU nilai terendah pada perlakuan T1 (10%) dengan rata-rata sebesar 53,23-66,00%. Perlakuan T4 adalah perlakuan yang terbaik terhadap pemberian konsentrasi ekstrak air tebu dalam mempertahankan kualitas MPU spermatozoa. Hal ini kemungkinan keberadaan sukrosa yang terkandung dalam ekstrak air tebu, semakin ditingkatkan pemberian ekstrak air tebu maka sukrosa dalam ekstrak air tebu akan berperan aktif dalam krioprotektan ekstraseluler yang berfungsi sebagai perlindungan membran dari kerusakan selama penyimpanan pada suhu rendah. Surachman *et al.* (2008) menyatakan bahwa keberadaan sukrosa dalam penelitiannya menghasilkan persentase spermatozoa hidup lebih tinggi dibandingkan tidak pemberian sukrosa dalam perlakuan. Hal ini diperkuat oleh pernyataan Aisen *et al.* (2002) golongan disakarida seperti sukrosa dan laktosa diketahui lebih baik dalam mempertahankan fungsi sebagai krioprotektan ekstraseluler membran sel.

Hasil penelitian penurunan rata-rata MPU perhari pemberian konsentrasi ekstrak air tebu tiap taraf perlakuan terhadap lama penyimpanan selama enam hari pengamatan menunjukkan kerusakan MPU spermatozoa terjadi penurunan secara bertahap dengan rata-rata sebesar 2,57% (T1), 2,25% (T2), 2,06% (T3) dan 2,00% (T4) nyata penurunannya lebih sedikit dari tiga perlakuan (Tabel 2). Dilihat dari hasil penyimpanan semen cair penggunaan ekstrak air tebu dengan penambahan 20% kuning telur cenderung menurun dengan lama penyimpanan terhadap rata-rata MPU spermatozoa Sapi Bali. Nalley *et al.* (2007) menjelaskan bahwa

selama penyimpanan semen berlangsung akan terjadi kerusakan terhadap dekomposisi protein pada membran sel sehingga lapisan lipoprotein pada sel akan menyebabkan terjadinya denaturasi protein yang disebabkan reaksi peroksidasi pada membran. Keutuhan membran plasma spermatozoa Sapi Bali dapat dilihat pada (Ilustrasi 1). Kecilnya penurunan kualitas MPU dalam penelitian ini bisa diminimalisir dengan adanya krioprotektan sukrosa yang terdapat dalam ekstrak air tebu. Rizal *et al.* (2006) jenis gula yang ditambahkan dalam pengencer akan berasosiasi dengan karbohidrat pada lapisan membran plasma sel yang rusak selama penyimpanan sehingga karbohidrat sebagai pengganti struktur selubung sel yang rusak secara mekanis tetap utuh.

Berdasarkan hasil penelitian penggunaan ekstrak air tebu dengan penambahan 20% kuning telur yang mengandung lipoprotein dan lesitin yang bekerja aktif melindungi MPU spermatozoa yang nyata terbukti mampu mempertahankan rata-rata 60% MPU spermatozoa Sapi Bali hingga hari keempat preservasi pada suhu 5°C. Hasil penelitian ini tidak jauh berbeda dengan laporan Bardan *et al.* (2009) bahwa penggunaan kombinasi air tebu dengan kuning telur dapat mempertahankan rata-rata 60% Membran Plasma Utuh hingga hari ketiga preservasi pada suhu 5°C. Labetubun *et al.* (2011) menjelaskan bahwa pemberian konsentrasi 20% kuning telur efektif mempertahankan dan menstabilkan membran spermatozoa yang dipreservasi pada suhu 3-5°C. Terjaganya membran plasma, maka proses metabolisme spermatozoa juga akan tetap berlangsung dengan baik, yang pada



Ilustrasi 1. Membran Plasma Spermatozoa Sapi Bali Setelah di Preservasi (Biru : Membran Normal ; Kuning : Membran Tidak Normal)

akhirnya berpengaruh positif terhadap motilitas spermatozoa selama penyimpanan berlangsung.

Tudung Akrosom Utuh (TAU) Spermatozoa Sapi Bali Pasca Pengenceran di Preservasi Suhu 5°C.

Berdasarkan hasil penelitian Tudung Akrosom Utuh (TAU) spermatozoa Sapi Bali pada tahap preservasi suhu 5°C hari pertama hingga hari keempat pengamatan, menunjukkan bahwa persentase TAU masih dalam rata-rata yang cukup tinggi, yaitu di atas rata-rata 50%. Keberhasilan Inseminasi Buatan (IB) harus diiringi kualitas spermatozoa yang baik, kualitas yang baik tidak hanya berpatokan pada motilitas progresif spermatozoa tetapi juga dilihat keutuhan tudung akrosom sel. Keutuhan tudung akrosom utuh berpengaruh baik terhadap proses kapasitas dan reaksi akrosom pada saat pembuahan, hal ini dapat dijelaskan bahwa keutuhan tudung akrosom berdampak positif terhadap fertilitas spermatozoa sapi bali pada saat pembuahan terjadi. Yudi *et al.* (2008)

menjelakan bahwa abnormal morfologi kepala spermatozoa di atas 10% akan menurunkan fertilitas pejantan.

Berdasarkan hasil penelitian, taraf perlakuan penggunaan konsentrasi ekstrak air tebu dengan penambahan 20% kuning telur yang menghasilkan nilai terbaik adalah pada perlakuan T4 (25%) dengan rata-rata TAU sebesar 51,00-61,75%, sedangkan persentase TAU nilai terendah pada perlakuan T1 (10%) dengan rata-rata sebesar 44,00-58,25% dari hari pertama hingga hari ke enam preservasi. Perlakuan T4 adalah perlakuan yang terbaik terhadap pemberian konsentrasi ekstrak air tebu dalam mempertahankan kualitas TAU yang diperoleh. Hal ini dapat dijelaskan bahwa keberadaan sukrosa dalam ekstrak air tebu dengan lipoprotein dan lesitin dalam kuning telur dapat bekerja dengan sinergi dalam mempertahankan keutuhan membran plasma sehingga tudung akrosom tudung juga dapat terlindungi. Junior *et al.* (2009) dan Jiang *et al.* (2007) melaporkan bahwa LDL dalam lipoprotein berfungsi sebagai krioprotektan sel spermatozoa terhadap

Tabel 4. Pengaruh Perlakuan terhadap TAU Spermatozoa Sapi Bali Setelah Enam Hari Preservasi.

Perlakuan	Penyimpanan (Hari)						Rataan Penurunan Perhari
	1	2	3	4	5	6	
	%.....%						%.....%
T1	58.25	55.25	51.50 ^c	49.50 ^b	46.25 ^c	44.00 ^b	3.06
T2	58.25	57.50	55.00 ^b	52.50 ^b	49.50 ^b	46.00 ^b	2.44
T3	60.25	57.75	57.75 ^{ab}	57.00 ^a	52.75 ^a	48.75 ^a	2.69
T4	61.75	59.25	58.50 ^a	57.00 ^a	54.00 ^a	51.00 ^a	2.31
Rata- Rata	59.63	57.44	55.69	54.00	50.63	47.44	

Sumber: Data Primer yang Diolah 2013.

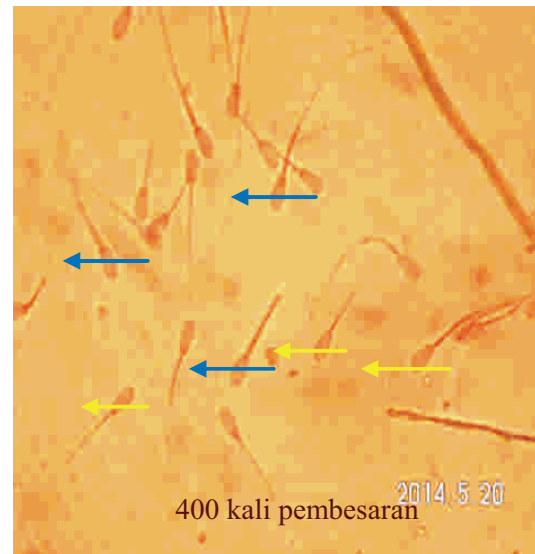
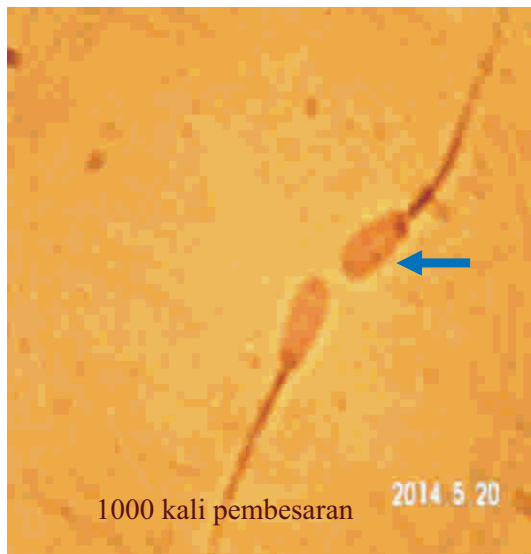
^{a,b,c}Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$).

perubahan suhu dengan jalan melapisi bagian fosfolipid dan kolesterol dari membran sel spermatozoa, selanjutnya Kmenta *et al.* (2011) menjelaskan bahwa lesitin berfungsi dalam membatasi reaksi oksigen dengan asam lemak tak jenuh pada fosfolipid membran dengan jalan mendorong dan mengikat membran plasma spermatozoa sehingga akan mengurangi terbentuknya anion superoksida yang terbentuk akibat peroksidasi asam lemak.

Berdasarkan hasil analisis statistik, taraf perlakuan konsentrasi pengencer perlakuan T4 (25%) pada hari ketiga hingga hari keenam preservasi menunjukkan rata-rata TAU spermatozoa Sapi Bali berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap taraf konsentrasi perlakuan T3 (20%), T2 (15%), dan T1 (10%), tetapi tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) terhadap pengamatan TAU hari pertama hingga hari kedua preservasi 5 °C. Hasil dari penelitian dapat diketahui bahwa perlakuan T3 dan T4 dapat mempertahankan TAU spermatozoa di atas rata-rata 50% hingga hari kelima preservasi 5 °C, bahkan pada hari keenam pengamatan T4 masih mempertahankan rata-rata 50% dengan rata-rata sebesar 51,00%. Hal ini

membuktikan bahwa dengan keberadaan sukrosa yang terkandung dalam ekstrak air tebu sekaligus lipoprotein dan lesitin dalam kuning telur dapat memproteksi membran spermatozoa terhadap kejutan dingin maupun efek denaturasi glikoprotein dan glikolipid penyusun membran dengan lamanya preservasi. Keutuhan MPU spermatozoa dapat memperpanjang masa motilitas spermatozoa dan kecil kemungkinan kerusakan TAU spermatozoa. Hal lain menjelaskan dalam penelitian ini bahwa kecilnya persentase TAU dibandingkan dengan MPU dalam penelitian ini diduga disebabkan faktor tingkat ketelitian dari mata pengamatan harus lebih teliti dalam memakai fokus mikroskop sehingga kemungkinan *human error* juga dapat terjadi dalam pengukuran akrosom spermatozoa. Keutuhan tudung akrosom utuh spermatozoa Sapi Bali dapat dilihat pada (Ilustrasi 2).

Hasil penelitian penurunan rata-rata TAU perhari pemberian konsentrasi ekstrak air tebu tiap taraf perlakuan terhadap lama penyimpanan selama enam hari pengamatan kerusakan TAU spermatozoa terjadi penurunan secara bertahap dengan rata-rata sebesar 3,06% (10%), 2,44% (15%), 2,69% (20%) dan 2,31% (25%) nyata penurunannya lebih



Ilustrasi 2. Tudung Akrosom Spermatozoa Sapi Bali Setelah di Preservasi (Biru : Akrosom Normal ; Kuning : Akrosom Tidak Normal).

sedikit dari tiga perlakuan. Hasil pengamatan dapat diketahui bahwa nilai rata-rata TAU spermatozoa Sapi Bali lebih kecil dibandingkan dari hasil MPU pada tahap preservasi pada suhu 5°C berlangsung. Berdasarkan pernyataan dari beberapa peneliti menyatakan bahwa dengan terlindungnya membran plasma maka tudung akrosom juga terlindungi (Bucak dan Tekin, 2007; Tambing *et al.*, 2003). Faktor penyebab rendah TAU dalam penelitian ini diduga kemungkinan karena adanya partikel-partikel debu dari hasil filterisasi micron yang dilakukan tidak terekstraksi dari penyaringan 20 millimicron sehingga menyebabkan tercampur dalam pengencer, hal ini akan menyebabkan efek buruk terhadap keutuhan tudung akrosom dan membran plasma utuh spermatozoa akibat terbeturnya partikel-partikel tersebut. Adanya zat aktif dari LDL dalam lipoprotein kuning telur akan berdampak efek yang baik terhadap membran plasma sel, sehingga susunan membran plasma yang rusak cepat tergantikan. Kemudian pada saat pengujian hukum osmotik larutan berlangsung membran plasma spermatozoa dalam keadaan normal sehingga penilaian membran lebih tinggi.

Hal ini diduga karena pengaruh perlindungan LDL yang terdapat dalam kuning telur yang berperan sebagai perlindungan integritas selubung lipoprotein membran dan selain itu juga lesitin berperan aktif dalam melindungi integritas fosfolipid penyusun membran, sehingga dapat mengikat susunan dan menstabil membran sel pada saat perubahan suhu. Solihati *et al.* (2005) dan Tambing *et al.* (2008) melaporkan bahwa lipoprotein yang terdapat dalam kuning telur sangat berperan aktif dalam perlindungan membran plasma sel spermatozoa dari kerusakan akibat kejutan dingin dan serangan radikal bebas akibat kontak dengan oksigen saat pengolahan semen baik untuk semen cair maupun dibekukan, terlindungnya membran plasma maka tudung akrosom juga akan tetap utuh selama proses preservasi berlangsung.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa pengencer penggunaan ekstrak air tebu dengan penambahan kuning telur dapat mempertahankan Membran Plasma Utuh (MPU) dan Tudung Akrosom Utuh (TAU)

spermatozoa hingga enam hari preservasi dibawah suhu 5°C. Perlakuan terbaik dilihat dari empat perlakuan yang diujicobakan adalah penggunaan konsentrasi 25% ekstrak air tebu dengan penambahan 20% kuning telur (T4) yang dapat mempertahankan kualitas MPU dan TAU spermatozoa Sapi Bali.

DAFTAR PUSTAKA

- 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.
- Amin, R.M., R. M. Toelihere., L. Tuti., Yusup., dan P. Situmorang. 1999. Pengaru Plasma Semen Sapi Terhadap Kualitas Semen Beku Kerbau Lumpur (*Bubalus Bubalis*). *J. Vet.* **4**(3): 143-147
- Anwar, P. 2011. Motilitas dan Viabilitas Semen Sapi Bali yang Diencerkan dengan Pengenceran Air Tebu yang Berbeda. Fakultas Pertanian Dan Peternakan Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau, Pekanbaru (Skripsi Sarjana S1).
- 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.
- Bergeron.A., M.H. Crete., Y. Brindle., and P. Manjunath. 2004. Low Density Lipoprotein Fraction From Hen's Egg Yolk Decreases The Binding Of The Major Protein Of Bovine Seminal Plasma To Sperm and Prevents Lipid Efflux From The Sperm Membrane. *Biol. Reprod*, **70**: 708–717.
- 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 Additioan And Cane Juice Ph Value On Brown Sugar Quality. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. **2** (3) : 54 - 64
- 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.
- Labetubun J., dan I.P. Siwa. 2007. Kualitas Spermatozoa Kauda Epididimis Sapi Bali dengan Penambahan Laktosa atau Maltosa yang Dipreservasi pada suhu 3-5oC. *Jurnal Veteriner* September. **12** (3) : 200-207.
- Manjunath. P., V. Nauc., A. Bergeron., and M. Menard. 2002. Major Proteins Of Bovine Seminal Plasma Bind To The Low Density Lipoprotein Fraction Of Hen's Egg Yolk. *Biol. Reprod*, **67**: 1250–1258.
- Nalley. W. M. M., R. Hamdarini., dan B. Purwantari. 2007. Viabilitas Spermatozoa Rusa Timur (*Cervus Timorensis*) Di Dalam Pengencer Tris Kuning Telur Dengan Penambhan Sumber Karbohidrat Berbeda Yang Disimpan Pada Suhu Ruang. *JITV*. **14**(4): 311-317.
- Pramono.E., dan T. R. Tagama. 2005. Pengaruh Penambahan Adenosin Triphospat Kedalam Pengencer Semen Terhadap Kualitas Spermatozoa Domba Ekor Gemuk. *Animal Production* **10**(3): 151-156.

- Risal 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.
- Surachmana M., Herdisa., Yulnawati., M. Rizal., 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.
- Tambing, S.N., I. K. Utama, dan R.I. Arifiantini. 2003. Efektivitas berbagai konsentrasi laktosa dalam pengencer tris terhadap viabilitas semen cair kambing saanen. *JITV*. **8**(2): 84-90.
- 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, M. R. 1985. Inseminasi Buatan Pada Ternak. Angkasa, Bandung.
- Toelihere, M.R. 1993. Fisiologi Reproduksi Pada Ternak. Angkasa, Bandung.