

KUALITAS SEMEN BEKU KAMBING PERANAKAN ETAWAH PADA PERMUKAAN NITROGEN CAIR DENGAN JARAK YANG BERBEDA

(FROZEN SEMEN QUALITY OF PE GOAT IN LIQUID NITROGEN SURFACE WITH DIFFERENT DISTANCE)

Revy Andryansyah, Teguh Sumarsono, Fachroerrozi Hoesni, Bayu Rosadi*

Program Studi Peternakan Fakultas Peternakan Universitas Jambi

Jl. Jambi-Ma. Bulian KM 15 Mendalo Darat Jambi 36361

*Correspondent author email : bayurosadi@unja.ac.id

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh jarak semen beku kambing PE dari permukaan nitrogen cair selama proses penanganan terhadap kualitas spermatozoa. Sebanyak 30 straw semen beku kambing PE produksi BBIB Singosari dibagi ke dalam 6 perlakuan yaitu: P0 (kontrol, straw disimpan dalam nitrogen cair), perlakuan lainnya berdasarkan jarak straw dari permukaan nitrogen cair yaitu P1 (5 cm), P2 (10 cm), P3 (15 cm), P4 (20 cm), dan P5 (25 cm) masing-masing dipaparkan selama 5 menit. Peubah yang diamati adalah motilitas, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penempatan semen beku kambing PE pada permukaan nitrogen cair dengan jarak yang berbeda menurunkan motilitas dan viabilitas spermatozoa ($P < 0,05$) dan tidak mempengaruhi abnormalitas spermatozoa ($P > 0,05$). Motilitas dan viabilitas spermatozoa menurun pada P4 dan P5. Dapat disimpulkan bahwa penempatan semen beku kambing PE hingga 15 cm dari permukaan nitrogen cair selama 5 menit tidak menurunkan kualitas spermatozoa.

Kata kunci: spermatozoa, preservasi, nitrogen cair, kambing PE

ABSTRACT

The research was undertaken to study the effect of frozen semen distance from liquid nitrogen surface during handling on spermatozoa quality of PE goat. Thirty straws of PE goat frozen semen was allotted into six treatments i.e. T0 (control, straws submerged in liquid nitrogen), T1 to T5 based on distance of straws to liquid nitrogen surface were 5, 10, 15, 20, and 25 cm. Variables measured were motility, viability, and abnormality of spermatozoas. The results showed that PE goat frozen semen exposed in different distance to liquid nitrogen surface decreased ($P < 0.05$) motily and viability of spermatozoas and had no effect ($P > 0.05$) on abnormality of spermatozoas. The motily and viability was decreased in T4 and T5. In conclusion, exposing PE goat frozen semen from liquid nitrogen surface at 15 cm or less for 5 min maintain the quality of spermatozoas.

Key words: spermatozoa, preservation, liquid nitrogen, PE goat

PENDAHULUAN

Kambing peranakan etawah (PE) merupakan kambing tipe dwiguna yang memiliki kemampuan beradaptasi sangat baik di Indonesia. Produksi susu yang dihasilkan oleh kambing peranakan etawah rata-rata 0,5-2,2 kg/ekor/hari (Andriani *et al*, 2003) rata-rata bobot badan kambing dewasa adalah 40 kg (Rasminati, 2013). Menurut Adiaty dan Priyanto (2011) usaha pemeliharaan kambing PE lebih banyak ditujukan untuk produksi

anak. Pengembangbiakan kambing PE masih mengandalkan perkawinan alami terkendala kurangnya pejantan unggul yang menyebabkan produktivitasnya kurang optimal. Oleh karena itu perlu adanya upaya untuk mengoptimalkan produktivitas kambing tersebut yaitu dengan menggunakan teknologi inseminasi buatan (IB).

Inseminasi buatan merupakan teknologi yang signifikan yang telah digunakan untuk

meningkatkan usaha ternak, memungkinkan percepatan kemajuan genetik dan seleksi (Medeiros *et al.*, 2002), dimana keberhasilan kriopreservasi semen memperbaiki efisiensi dan keberhasilan IB. Kriopreservasi spermatozoa merupakan proses berurutan mulai penurunan temperatur, dehidrasi, pembekuan, penyimpanan, dan *thawing*. Dibanding sel-sel lain, sel spermatozoa seharusnya kurang sensitif terhadap kerusakan kriopreservasi karena kandungan air yang rendah dan fluiditas membran yang tinggi (Ugur *et al.*, 2019). Walaupun demikian, kriopreservasi merusak integritas spermatozoa, perubahan struktur dan fungsi membran serta metabolisme sel (Hammerstedt *et al.*, 1990), menurunkan motilitas, fragmentasi DNA, menurunkan daya fertilisasi (Wakayama and Yanagimachi, 1998; Bailey *et al.*, 2000, Takeda *et al.*, 2015).

Kerusakan spermatozoa berkaitan dengan cekaman akibat perubahan suhu ekstrim yang dialami spermatozoa selama proses kriopreservasi khususnya proses pendinginan dan pembekuan (Baust *et al.*, 2009). Selama pendinginan spermatozoa terpapar banyak efek meusak mencakup decoupling metabolik, ketidakseimbangan ion, aktivasi protease,

asidois seluler, penurunan energy, transisi fase membran, destabilisasi sitoskeleton, dan produksi radikal bebas (reactive oxygen species, ROS). Selama proses pembekuan, spermatozoa juga terkena efek merusak pembentukan kristal es. Rizal *et al.* (2010) menyatakan bahwa pada saat *thawing*, semen mengalami tekanan yang berat akibat peningkatan suhu yang drastis.

Paparan spermatozoa terhadap perubahan suhu yang drastis dapat terjadi selama proses penanganan semen beku. Untuk keperluan operasional IB, semen beku disimpan dalam kontainer nitrogen cair. Inseminator mengambil semen beku dalam kemasan straw setiap kali IB untuk dibawa dalam wadah berisi nitrogen cair yang lebih kecil, proses ini mencakup turun naik canister penyimpan kumpulan straw. Ketika volume nitrogen cair dalam kontainer sudah menurun, saat canister diangkat mendekati mulut container, canister tidak terisi penuh atau bahkan kosong dari nitrogen cair. Straw berisi spermatozoa akan terpapar dengan fluktuasi suhu yang cukup drastis. Berdasarkan ini maka dilakukan penelitian tentang kualitas spermatozoa semen beku kambing PE berdasarkan jarak penyimpanan dari permukaan nitrogen cair.

METODE PENELITIAN

Semen Beku

Pada penelitian ini digunakan semen beku kambing PE yang diproduksi oleh BBIB Singosari. Semen beku dalam kemasan straw 0.25 ml mempunyai no seri produksi yang sama berarti berasal dari satu ejakulat yang sama, hal ini menjamin keseragaman unit percobaan. Straw disimpan dalam container nitrogen cair kapasitas 13 liter (Taylor-Wharton, USA). Container diisi nitrogen cair sepertiga dari kapasitasnya sehingga tersisa duapertiga ruang kosong di atas permukaan nitrogen cair.

Perlakuan Jarak Straw dari Permukaan Nitrogen Cair

Tiga puluh straw semen beku kambing PE dibagi secara acak ke dalam 6 perlakuan sebagai berikut:

P0 = Kontrol (straw direndam dalam nitrogen cair)

P1 = Straw diangkat dengan jarak 5 cm diatas permukaan N₂ cair

P2 = Straw diangkat dengan jarak 10 cm diatas permukaan N₂ cair

P3 = Straw diangkat dengan jarak 15 cm diatas permukaan N₂ cair

P4 = Straw diangkat dengan jarak 20 cm diatas permukaan N₂cair

P5 = Straw diangkat dengan jarak 25 cm diatas permukaan N₂ cair

Pada setiap perlakuan, canister berisi kumpulan straw diangkat sampai jarak yang ditentukan dari permukaan nitrogen cair. Straw ditahan dalam posisi tersebut selama 5 menit, selanjutnya straw dimasukkan kembali ke dalam cairan nitrogen dalam container.

Penilaian Kualitas Spermatozoa

Semen beku diambil dari penyimpanan dalam container kemudian *thawing* dilakukan pada suhu 37 °C selama 30 detik. Semen dikeluarkan dari straw dan diamati untuk mengukur motilitas, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa.

Pengukuran Motilitas

Motilitas dihitung menggunakan metode estimasi (Junaedi *et al.*, 2016). Motilitas spermatozoa diamati dengan cara meletakkan satu tetes semen ditambah 10 tetes NaCl

fisiologis. Motilitas spermatozoa dihitung dengan estimasi dari lima lapang pandang, dinyatakan dalam persentase.

Viabilitas

Penghitungan viabilitas menggunakan pewarnaan eosin negrosin. Sebanyak 2 tetes larutan eosin negrosin ditempatkan pada gelas objek bersih, satu tetes semen dicampurkan ke dalam larutan eosin nigrosin, selanjutnya diulas memakai gelas objek lainnya. Perhitungan persentase hidup didasarkan atas perbandingan jumlah spermatozoa yang hidup (kepala tidak berwarna) dengan total spermatozoa yang dihitung. Jumlah total spermatozoa yang diamati minimal 200 setiap pengamatan.

Abnormalitas Spermatozoa

Abnormalitas adalah penyimpangan dari bentuk morfologi normal spermatozoa yang dapat menyebabkan penurunan daya fertilitasnya. Penghitungan abnormalitas spermatozoa dilakukan menggunakan pewarnaan yang sama dengan spermatozoa hidup. Jumlah spermatozoa yang dihitung minimal 200 setiap pengamatan. Persentase abnormalitas dihitung menggunakan rumus:

Analisis Data

Data yang didapatkan dari setiap peubah yang diamati analisis dengan sidik ragam, Bila perlakuan berpengaruh nyata, dilakukan uji lanjut Duncan (Steel dan Torrie, 1993). Proses penghitungan data menggunakan program SPSS.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa jarak straw terhadap permukaan nitrogen cair mempengaruhi motilitas dan viabilitas

spermatozoa (P<0.05), tetapi tidak mempengaruhi abnormalitas spermatozoa (P>0.05; Tabel 1).

Tabel 1. Motilitas, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa kambing PE

Perlakuan	Suhu (°C)*	Peubah		
		Motilitas (%)	Viabilitas (%)	Abnormalitas (%)
P0	-196	47.91±4.34 ^a	50.05±2.34 ^a	3.81±1.66
P1	-50 >*	47.52±4.52 ^a	48.87±2.85 ^{ab}	4.55±2.08
P2	-50 >*	45.48±5.21 ^{ab}	47.45±3.31 ^{abc}	3.91±2.06
P3	-42,0	44.01±5.28 ^{ab}	46.81±1.86 ^{abc}	4.92±1.67
P4	-20,7	41.74±4.54 ^{ab}	43.41±3.23 ^{cd}	3.35±1.54
P5	-3,2	38.99±3.74 ^b	41.51±1.97 ^d	3.00±0.81

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata (P<0,05) *Daya ukur termometer yang digunakan sampai -50°C.

Dari tabel terlihat bahwa penempatan semen beku kambing PE dengan jarak tertentu dari permukaan nitrogen cair menurunkan motilitas spermatozoa (P<0.05). Motilitas P5 lebih rendah dari P0, tetapi tidak berbeda dengan P1, P2, P3, dan P4, tidak ada perbedaan antara P1, P2, P3, dan P4. Tabel memperlihatkan semakin jauh jarak straw dari permukaan nitrogen cair, maka suhu semakin tinggi. Pada P0 suhu nitrogen cair (-196 °C) naik sampai -3 °C pada P5, perbedaan suhu mempengaruhi peubah yang diukur.

Pada semua perlakuan (kecuali P0), spermatozoa terpapar pada suhu lebih tinggi dari suhu nitrogen cair selama 5 menit, kemudian terpapar kembali dengan suhu nitrogen cair sebelum dithawing. Penurunan

motilitas secara signifikan terjadi pada P5, suhu terukur pada posisi tersebut adalah -3°C. Motilitas dapat dipertahankan sampai P4 dengan kondisi suhu -20,7°C. Dengan lama pemaparan selama 5 menit, diduga perubahan kriogenik yang terjadi pada spermatozoa belum sampai menurunkan daya gerak spermatozoa. Rosadi et al. (2015) melaporkan penyimpanan semen beku pada suhu -20 °C selama 30 menit mempertahankan motilitas spermatozoa diatas 40%, tetapi menurun setelah 45 menit.

Fluktuasi suhu yang dialami spermatozoa menimbulkan sumber-sumber cekaman diantaranya *decoupling metabolik*, ketidakseimbangan ion, aktivasi protease, asidosis seluler, penekanan energi, produksi ROS (Baust et al., 2009). Konsentrasi ROS

yang tinggi berkaitan dengan peningkatan peroksidasi lipid yang meningkat di membran plasma spermatozoa dan menurunkan viabilitas spermatozoa (Scherle *et al.*, 2011). Tingkat fluktuasi suhu pada P5 lebih tinggi dibandingkan perlakuan lainnya, diduga tingkat kerusakan kriogenik termasuk yang diakibatkan produksi ROS juga lebih tinggi. Membran plasma merupakan platform dinamis untuk lokalisasi macam-macam komponen yang secara aktif berpartisipasi dalam seluruh aspek proses motilitas mencakup pembentukan tenaga, perlekatan, signaling dan regulasi (Keren, 2011). Proses fisiologis sel yang mendukung mekanisme gerak spermatozoa terganggu dengan kerusakan membran karena tingginya produksi ROS. Sebagai konsekuensinya motilitas spermatozoa menurun.

Penempatan semen beku pada permukaan nitrogen cair menurunkan viabilitas kambing PE ($P < 0.05$). Viabilitas spermatozoa yang nyata lebih rendah terjadi pada mulai P4 dan berlanjut ke P5. Karena disparitas antara suhu nitrogen cair (P0) dengan suhu pada P4 dan P5 lebih besar dibandingkan perlakuan lainnya, diduga kerusakan kriogenik karena cekaman akibat fluktuasi suhu juga lebih besar pada P4 dan P5. Tingkat kerusakan kriogenik yang spermatozoa menyebabkan kematian sel (apoptosis). Apoptosis berkaitan dengan kerusakan kriogenik DNA spermatozoa dan pembentukan ROS menyebabkan kerusakan DNA (Johnston *et al.*, 2012). Kerusakan DNA berhubungan dengan beberapa mekanisme yang terjadi selama kriopreservasi, kerusakan pita ganda karena produksi ROS yang tinggi (McCarthy *et al.*, 2009), kerusakan enzim-enzim perbaikan DNA (Bogle *et al.*, 2017), dan cekaman mekanik areal genom molekul DNA dimana kompaksi kromatin meningkat karena

pengerucutan sel (Kopeika *et al.*, 2015). Keberadaan DNA yang utuh sangat krusial bagi spermatozoa. DNA mengandung intruksi genetik untuk perkembangan dan fungsi spermatozoa dengan mengkode sekuen residu asam-asam amino dalam protein. Sintesis protein spesifik spermatozoa seperti halnya sel-sel yang lain memperantarai respon terhadap rangsangan lingkungan untuk mempertahankan hidup dan menjalankan fungsinya. Kerusakan pada DNA menyebabkan spermatozoa kehilangan kemampuan untuk merespon rangsangan dari lingkungan sehingga mengakibatkan apoptosis.

Penempatan semen beku diatas permukaan nitrogen cair tidak mempengaruhi abnormalita spermatozoa kambing PE ($P > 0,05$). Abnormalitas tidak bertambah akibat cekaman yang dialami spermatozoa akibat perlakuan. Abnormalitas yang teramati disebabkan oleh proses selama spermatogenesis, perjalanan spermatozoa sampai di epididimis, serta proses kriopreservasi dalam proses produksi semen beku. Kerusakan kriogenik spermatozoa yang menyebabkan penurunan motilitas dan viabilitas tidak menyebabkan kerusakan morfologi secara keseluruhan, persentase abnormalitas tidak terpengaruh. Persentase abnormalitas pada penelitian ini rendah dan dalam batas toleransi untuk fertilitas. Tingkat abnormalitas morfologi 8-10% tidak mempunyai pengaruh yang berarti bagi fertilitas, tetapi abnormalitas lebih dari 25% dari satu ejakulat menyebabkan penurunan fertilitas (Bearden dan Fuquay, 1997). Apabila persentase abnormalitas spermatozoa lebih dari 15% menunjukkan adanya infertilitas atau ketidak suburan pejantan dan akan menurunkan fertilitas karena tidak dapat membuahi sel telur (Hartono, 2019).

SIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemaparan semen beku kambing PE setinggi 15 cm atau kurang dari permukaan

nitrogen cair selama 5 menit tidak menurunkan kualitas spermatozoa.

DAFTAR PUSTAKA

- Adiati U, D Priyanto. 2011. Karakteristik Morfologi Kambing PE Di Dua Lokasi Sumber Bibit. *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Balai Penelitian Ternak Ciawi.*
- Adriani A, Sudono T, Sutardi, Manalu W, Utama IK. 2003. Optimalization of kids

- and milk yield of Etawah-Grade does by superovulation and zinc supplementation. *J. Forum Pascasarjana IPB*. Vol 26 (4): 335-352.
- Bailey JL, Bilodeau JF, N Cormier. 2000. Semen cryopreservation in domestic animals: a damaging and capacitating phenomenon. *J Androl*. 21:1-7
- Baust JG, Gao D, JM Baust. 2009. Cryopreservation: an emerging paradigm change. *Organogenesis*. 5(3): 90-96.
- Bearden HJ and JW Fuguay. 1980. *Applied Animal Reproduction*. Reston Publishing Company. Inc. Printice Hall Company, Reston Virginia
- Bogle OA, Kumar K, Attardo-Parrinello C, Lewis SEM, Estanyol JM, JL Ballescà. 2017. Identification of protein changes in human spermatozoa throughout the cryopreservation process. *J. Andrology*. 5(1):10-22.
- Hammerstedt RH, Graham JK, Nolan JP. 1990. Cryopreservation of mammalian sperm: what we ask them to survive. *J Androl*. 11(1):73-88.
- Hartono M. 2019. Kualitas Semen Kambing Peranakan Boer. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan* 10(1): 52-58.
- Junaedi, Arifiantini I, Sumantri C, Gunawan A. 2016. Penggunaan Dimethyl Sulfoxide Sebagai Krioprotektan dalam Pembekuan Semen Ayam Kampung. *Jurnal Veteriner* 17 (2): 300-308.
- Johnston SD, Satake N, Zee Y, López-Fernández C, Holt WV, J Gosálvez. 2012. Osmotic stress and cryoinjury of koala sperm: an integrative study of the plasma membrane, chromatin stability and mitochondrial function. *Reproduction*.143(6):787-97.
- Keren K. 2011. Cell motility: the integrating role of the plasma membrane. *J Eur Biophys*. 40(9): 1013-1027.
- Kopeika J, Thornhill A, Khalaf Y. 2015. The effect of cryopreservation on the genome of gametes and embryos: principles of cryobiology and critical appraisal of the evidence. *Hum Reprod Update*. 21(2):209-27.
- McCarthy MJ, Baumber J, Kass PH, SA Meyers. 2009. Osmotic stress induces oxidative cell damage to rhesus macaque spermatozoa. *Biol Reprod*. 82(3):644-651.
- Medeiros CMO, Forell F, Oliveira ATD, Rodrigues JL. 2002. Current status of sperm cryopreservation: why isn't it better? *Theriogenology* 57(1):327-344.
- Rasminati N. 2013. Grade Kambing Peranakan Ettawa pada Kondisi Wilayah yang Berbeda. *Sains Peternakan* 11 (1): 43-48
- Rizal M, dan Herdis. 2010. Peranan Antioksidan Dalam Meningkatkan Kualitas Semen Beku. *Wartazoa* 20 (3): 139-145.
- Rosadi B, Sumarsono T, Darmawan. 2015. Motilitas Spermatozoa Kerbau Lumpur pada Penyimpanan Semen Beku dalam Es. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan* 18 (2):98-101.
- Scherle CC, Maia MS, Bicudo S, Rodello L, Azevedo H. 2011. Lipid peroxidation and generation of hydrogen peroxide in frozen-thawed ram semen supplemented with catalase or Trolox. *Small Ruminant Research* 95 (2-3): 144-149.
- Takeda K, Uchiyama K, Kinukawa M, Tagami T, Kaneda M, Watanabe S. 2015. Evaluation of sperm DNA damage in bulls by TUNEL assay as a parameter of semen quality. *J Reprod Dev* 61(3): 185-190.
- Wakayama T, Yanagimachi R. 1998. Development of normal mice from oocytes injected with freeze-dried spermatozoa. *Nat Biotechnol* 16(7): 639-646.