

## PENGARUH PENGGUNAAN VITAMIN E DALAM PENGECER SUSU SKIM PADA SPERMA BEKU TERHADAP PERSENTASE MOTILITAS DAN PERSENTASE SPERMATOZOA HIDUP DOMBA PRIANGAN

### *The Effect of Vitamine E Utilization in Skimmed Milk Dilution of Frozen Sperm Against Priangan Sheep's Motility and Lived Spermatozoa Presentation*

**Sri Teguh Waluyo\***

*Balai Besar Pelatihan Kesehatan Hewan Cinagara Bogor*

*\*Korespondensi Penulis: E-mail sriteguhwaluyo1956@gmail.com*

Diterima: Februari 2018

Disetujui terbit: April 2018

#### ABSTRACT

*The objective of this research is to know the optimal concentration level of vitamine E in the skimmed milk dilution against Priangan sheep's motility and lived spermatozoa presentation. The research was done in the Laboratory of Artificial Insemination Institution, Lembang, Bandung, from November 2017 up to January 2018. In the experiment, spermatozoa from five of Priangan sheep collected by artificial vagina and diluted with skimmed milk, each dilution added by different dose of 10, 20, 30, 40  $\mu\text{g}$  vitamine E and without vitamine E per milliliter for control. The experimental method used was Completely Randomized Design continued by Duncan multiple rank test 5% significant. Observed variable was motility and lived spermatozoa presentation measured after dilution and equilibration, and after thawing with include percentage of motility, lived. The result of experiment showed that percentage of motility and lived spermatozoa after dilution were not significantly after treatment ( $P>0.05$ ), after equilibration and thawing resulted the highest percentage of motility and lived in the treatment of  $E_{30}$  (72.00 and 54.00 %), and (82.20 and 67.60%) significantly different compared to the other treatment ( $P<0.05$ ).*

**Key words:** *vitamine E, sperm, skimmed milk dilution*

#### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat konsentrasi vitamin E yang optimal pada pengencer susu skim terhadap persentase motilitas dan persentase spermatozoa hidup pada sperma beku Domba Priangan. Penelitian ini dilakukan di laboratorium Balai Inseminasi Buatan, Lembang, Bandung dari bulan November 2017 sampai bulan Januari 2018. Pada percobaan, spermatozoa dari lima ekor Domba Priangan ditampung dengan vagina buatan dan diencerkan dengan susu skim, masing-masing pengencer diberi vitamin E dengan dosis yang berbeda, yaitu tanpa vitamin E sebagai kontrol, 10, 20, 30 dan 40  $\mu\text{g}$  vitamin E per mililiter. Metode eksperimental menggunakan rancangan dasar Rancangan Acak Lengkap, yang dilanjutkan uji jarak berganda Duncan taraf nyata 5%. Peubah yang diamati adalah kualitas spermatozoa yang diukur setelah pengenceran, setelah ekuilibrisasi, serta setelah pencairan kembali yang meliputi persentase motilitas, persentase hidup spermatozoa. Hasil percobaan menunjukkan bahwa persentase motilitas dan persentase spermatozoa hidup pasca pengenceran tidak berbeda nyata antar perlakuan ( $P>0,05$ ). Pada pasca ekuilibrisasi dan pasca pencairan kembali yang menghasilkan persentase motilitas dan persentase hidup tertinggi pada perlakuan  $E_{30}$  (72,00 dan 54,00 %) dan (82,20 dan 67,60 %) berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan yang lain ( $P<0,05$ ).

**Kata kunci :** *Vitamin E, sperma, pengencer susu skim*

#### PENDAHULUAN

Inseminasi buatan (IB) merupakan salah satu metode untuk memperbaiki mutu genetik. IB pada domba di Indonesia belum banyak dilakukan dan belum begitu berhasil dibanding pada

ternak sapi (Tomaszewska *et al.*,1993). Hal ini dipengaruhi oleh tingkat konsepsi yang rendah, jika dibandingkan dengan sistem kawin alam. IB domba biasanya dideposisikan pada mulut serviks, dan harus melewati serviks sebelum mencapai uterus (Tomaszewska *et al.*1991).

Kendala inilah yang kemungkinan menyebabkan IB pada domba mendapatkan angka konsepsi yang lebih rendah daripada kawin alam.

Proses pembekuan dan pencairan kembali sperma domba menyebabkan kerusakan ultrastruktur, biokimia dan fungsi yang nyata pada sebagian spermatozoa. Perubahan ini disertai oleh penurunan motilitas, gangguan transpor dan penurunan daya tahan spermatozoa di dalam saluran reproduksi betina, dan mengurangi fertilitas setelah diinseminasikan pada serviks (Salamon dan Maxwell, 1995).

Salah satu penyebab kerusakan pada spermatozoa selama proses kriopreservasi sampai pencairan kembali adalah peroksidasi lipid. Komponen terpenting membran sel adalah fosfolipid, glikolipid, dan kolesterol. Dua komponen pertama mengandung asam lemak tak jenuh ganda yang sangat rentan terhadap oksidasi yang menyebabkan terjadinya radikal bebas, terutama radikal hidroksil ( $\text{OH}^{\bullet}$ ). Radikal hidroksil ini dapat menimbulkan reaksi berantai yang dikenal dengan nama peroksidasi lipid (Wijaya, 1996). Jones *et al.* (1979) menyatakan bahwa membran plasma spermatozoa kaya akan asam lemak tak jenuh sehingga rentan terhadap kerusakan peroksidasi. Kerentanan spermatozoa terhadap peroksidasi lipid meningkat disebabkan oleh cekaman dingin (Pursel, 1979). Proses peroksidasi mengubah struktur spermatozoa, menyebabkan kehilangan motilitas, dan menurunkan daya hidup, perubahan metabolisme yang cepat dan pelepasan komponen intraseluler (Jones dan Mann, 1977). Keadaan ini dapat dicegah dengan menambah vitamin E ke dalam pengencer sperma. Vitamin E merupakan salah satu komponen yang

diketahui sebagai larutan yang kompatibel, terakumulasi sebagai respon terhadap stres dalam berbagai sel hidup. Vitamin E juga melindungi sel dari kerusakan akibat tekanan osmotik, kerusakan panas karena denaturasi enzim dan pembekuan (Sanchez *et al.*, 1996). Oleh karena itu, penambahan vitamin E dalam pengenceran sperma diharapkan dapat meningkatkan kualitas spermatozoa setelah pengenceran, ekuilibrisasi dan pencairan kembali.

## METODE

Penelitian ini dilakukan di Balai Inseminasi Buatan, Lembang, Bandung, dengan menggunakan materi lima domba Priangan berumur 2 - 3 tahun dengan rata-rata bobot badan  $38,1 \pm 1,24$  kg. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan empat kadar vitamin E dan satu tanpa vitamin E sebagai kontrol ( $\text{E}_0$ ,  $\text{E}_{10}$ ,  $\text{E}_{20}$ ,  $\text{E}_{30}$ ,  $\text{E}_{40}$ ) dengan lima ulangan. Peubah yang diamati adalah kualitas sperma yang diukur setelah pengenceran, ekuilibrisasi, serta pencairan kembali yang meliputi persentase motilitas, hidup. Data yang diperoleh kemudian dianalisis melalui sidik ragam yang dilanjutkan dengan uji berganda Duncan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Karakteristik sperma segar

Dilakukan evaluasi sperma segar secara makroskopis meliputi volume, warna, konsistansi, dan pH, sedangkan mikroskopis meliputi gerakan massa, konsentrasi, motilitas, sperma hidup, dan abnormalitas. Secara makroskopis maupun mikroskopis sperma domba yang digunakan dengan kualitas baik, sehingga dapat diproses lebih lanjut.

Tabel 1. Sifat fisik sperma segar domba priangan.

Parameter	Ukuran
Volume (ml)	1,07 ± 0,15
Warna	Krem
Konsistensi	Kental
Derajat Keasaman (pH)	6,81 ± 0,01
Gerakan Massa	+++
Konsentrasi (juta spermatozoa/ml sperma)	2890 ± 257,06
Motilitas, (%)	82 ± 2,45
Spermatozoa hidup, (%)	89,4 ± 0,80
Abnormalitas, (%)	8 ± 1,09

### Karakteristik sperma setelah diproses

#### *Persentase motilitas dan hidup*

Tabel 2. Rataan persentase motilitas dan spermatozoa hidup sesuai perlakuan dan tahap pengolahan sperma

Perlakuan	Tahap Pengolahan		
	Pengenceran	Ekuilibrasi	Pencairan kembali
<i>Persentase motilitas</i>			
E <sub>0</sub> = tanpa vit E	79,00 ± 2,24 <sup>a</sup>	61,00 ± 2,24 <sup>a</sup>	41,00 ± 4,18 <sup>a</sup>
E <sub>10</sub> = 10 µg vit E	79,00 ± 2,24 <sup>a</sup>	65,00 ± 3,54 <sup>b</sup>	43,00 ± 4,47 <sup>ab</sup>
E <sub>20</sub> = 20 µg vit E	81,00 ± 2,24 <sup>a</sup>	66,00 ± 2,24 <sup>b</sup>	46,00 ± 2,24 <sup>b</sup>
E <sub>30</sub> = 30 µg vit E	82,00 ± 2,74 <sup>a</sup>	72,00 ± 2,74 <sup>c</sup>	54,00 ± 5,48 <sup>c</sup>
E <sub>40</sub> = 40 µg vit E	81,00 ± 2,24 <sup>a</sup>	67,00 ± 2,74 <sup>b</sup>	47,00 ± 2,74 <sup>b</sup>
<i>Persentase hidup</i>			
E <sub>0</sub> = tanpa vit E	84,20 ± 1,48 <sup>a</sup>	76,40 ± 1,14 <sup>a</sup>	56,00 ± 2,45 <sup>a</sup>
E <sub>10</sub> = 10 µg vit E	85,80 ± 1,30 <sup>a</sup>	78,00 ± 2,00 <sup>ab</sup>	58,20 ± 2,68 <sup>a</sup>
E <sub>20</sub> = 20 µg vit E	86,80 ± 2,28 <sup>a</sup>	79,40 ± 1,14 <sup>b</sup>	61,20 ± 2,17 <sup>b</sup>
E <sub>30</sub> = 30 µg vit E	87,60 ± 1,14 <sup>a</sup>	82,20 ± 1,79 <sup>c</sup>	67,60 ± 1,52 <sup>c</sup>
E <sub>40</sub> = 40 µg vit E	86,20 ± 1,79 <sup>a</sup>	79,00 ± 1,22 <sup>b</sup>	63,20 ± 2,59 <sup>b</sup>

Keterangan: a, b, c, superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan ada perbedaan pada P<0,05

Tabel di atas menunjukkan bahwa pada tahap pengenceran, tidak ada pengaruh yang nyata pada penambahan vitamin E terhadap persentase motilitas spermatozoa, dan kelima perlakuan sama baiknya dalam mempertahankan motilitas spermatozoa. Pada pasca ekuilibrasi, rata-rata persentase motilitas pada E<sub>30</sub> (72,00) lebih tinggi daripada E<sub>0</sub>, E<sub>10</sub>, E<sub>20</sub>, E<sub>40</sub> (61,00, 65,00, 66,00 dan 67,00) berbeda nyata (P<0,05), tetapi antara E<sub>10</sub>, E<sub>20</sub>, E<sub>40</sub> berbeda tidak nyata (P>0,05), adapun perlakuan pengencer ditambah vitamin E lebih tinggi dan berbeda nyata daripada tanpa vitamin E atau kontrol (P<0,05). Pada pasca pencairan kembali, rata-rata

persentase motilitas pada E<sub>30</sub> (54,00) lebih tinggi daripada E<sub>0</sub>, E<sub>10</sub>, E<sub>20</sub>, dan E<sub>40</sub> (41,00, 43,00, 46,00 dan 47,00) berbeda nyata (P<0,05), sedangkan E<sub>0</sub> dengan E<sub>10</sub> berbeda tidak nyata (P>0,05). Begitu juga antara E<sub>10</sub>, E<sub>20</sub>, dan E<sub>40</sub> berbeda tidak nyata (P>0,05) (Tabel 2.).

Untuk mengetahui persentase hidup, pada tahap pengenceran, tidak ada pengaruh yang nyata pada penambahan vitamin E terhadap persentase hidup spermatozoa. Pada pasca ekuilibrasi, rata-rata persentase motilitas pada E<sub>30</sub> (80,20) lebih tinggi daripada E<sub>0</sub>, E<sub>10</sub>, E<sub>20</sub>, E<sub>40</sub> (76,40, 78,00, 79,40 dan 79,00) berbeda nyata (P<0,05), tetapi antara E<sub>10</sub>, E<sub>20</sub>, dan

$E_{40}$  berbeda tidak nyata ( $P>0,05$ ), sedangkan  $E_0$  dengan  $E_{10}$  berbeda tidak nyata ( $P>0,05$ ). Begitu juga antara  $E_{10}$ ,  $E_{20}$ , dan  $E_{40}$  berbeda tidak nyata ( $P>0,05$ ). Pada pasca pencairan kembali, rataan persentase hidup pada  $E_{30}$  (67,60) lebih tinggi daripada  $E_0$ ,  $E_{10}$ ,  $E_{20}$ , dan  $E_{40}$  (56,00, 58,20, 61,20 dan 63,20) berbeda nyata ( $P<0,05$ ), sedangkan  $E_0$  dengan  $E_{10}$  berbeda tidak nyata ( $P>0,05$ ). Begitu juga antara  $E_{20}$ , dan  $E_{40}$  berbeda tidak nyata ( $P>0,05$ ) (Tabel 2.).

Menurut Paradisi *et al.* (1985) yang disitir oleh Windsor *et al.* (1993) kehilangan aldenilat siklase sebagai akibat peroksidasi lipid mencegah sintesis *camp* yang mempunyai peran penting dalam motilitas spermatozoa. Hal ini didukung oleh pendapat John dan Stewart (1979) yang mengemukakan bahwa terjadinya perubahan struktur pada spermatozoa yang diakibatkan oleh cekaman dingin menyebabkan spermatozoa hidup sangat rendah. Adanya vitamin E yang dapat melindungi spermatozoa dari cekaman dingin pada pengencer susu skim menyebabkan integritas membran sel tetap terjaga. Dengan terjaganya integritas membran sel, proses metabolisme akan tetap berjalan dengan baik sehingga menunjang motilitas dan daya hidup spermatozoa. Vitamin E bersama gliserol dan kuning telur akan meningkatkan motilitas spermatozoa domba setelah thawing, namun vitamin E hanya berpengaruh pada motilitas spermatozoa (Sanchez *et al.*, 1996). Pada konsentrasi vitamin E 27 mM, bersama gliserol dan kuning telur mampu meningkatkan motilitas spermatozoa. Namun pemberian vitamin E konsentrasi sangat tinggi (81mM) akan mengganggu motilitas dan meracuni spermatozoa domba. Vitamin E bersama gliserol dan kuning telur akan meningkatkan motilitas spermatozoa domba setelah thawing, namun vitamin E

hanya berpengaruh pada motilitas spermatozoa (Sanchez *et al.*, 1996).

## SIMPULAN

Adapun simpulan yang dapat ditarik dari penelitian di atas adalah sebagai berikut:

1. Pengencer susu skim memenuhi persyaratan untuk krioperservasi sperma domba.
2. Penambahan vitamin E ke dalam bahan pengencer susu skim dapat mempertahankan kualitas spermatozoa pada sperma beku baik dalam mempertahankan persentase motilitas maupun jumlah spermatozoa yang hidup.
3. Penambahan vitamin E dengan dosis 30  $\mu\text{g}$  per milliliter ke dalam pengencer susu skim memberikan hasil yang lebih baik daripada dosis lainnya maupun tanpa vitamin E.

## DAFTAR PUSTAKA

- John RC, Stewart DL. 1979. *The effect of cooling to 50 C and freezing and thawing on the ultrastructure of bull spermatozoa*. J. Dairy Sci. 36:733-742.
- Jones RC, Mann T. 1977. *Toxicity of exogenous fatty acid peroxides towards spermatozoa*. J. Reprod. Fertil. 50: 255-260.
- Pursel VG. 1979. *Effect Of Cold Shock On Boar Sperm Treated With Butylated Hydroxitoluene*. Biol. Reprod. 21:319-325.
- Salamon S, Maxwell WMC. 1995a. *Frozen Storage Of Ram Semen I. Processing, Freezing, Thawing And Fertility After Cervical Insemination*. Anim. Reprod. Sci. 37:85-249.
- Salamon S, Maxwell WMC. 199b. *Frozen Storage Of Ram Semen II. Causes Of Low Fertility After Cervical Insemination And Method Of Improvement*. Anim Reprod. Sci. 38:1-36.
- Sanchez-Partida LG, Setchel BP, Maxwell. WMC. 1996. *Effect of compatible solutes and diluents composition on the*

*post-thaw motility characteristics of spermatozoa in ewe after cervical, transcervical, and intrauterine insemination with frozen-thawed ram semen.* Journal of Andrology. Vol 20. 2:280-288.

Tomaszewska MW, Utama IK, Putu IG, Caniago TD. 1991. *Reproduksi Tingkah Laku dan Produksi Ternak di Indonesia.* P.T. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

Tomaszewska MW, Mastika IM, Djajanegara A, Gardiner S, Wiradarya R. 1993. *Reproduksi Kambing Dan Domba Di Indonesia.* Sebelas Maret University Press.

Wijaya A. 1996. *Radikal bebas dan parameter status antioksidan.* Forum diagnosticum No. 1, Laboratorium Klinik Prodia.

Windsor DP, White IG, Selley M L, Swan MA. 1993. *Effect of the lipid peroxidation product (E)-4-hydroxy-2-nonenal on ram sperm function.* J. Reprod. Fert., 99:359-366.

Windsor DP. 1996. *Mitochondrial function and ram sperm fertility.* Reproduction and Fertility Development, 3:279-284.