

PENGARUH PENGGUNAAN VITAMIN E DALAM PENGECER SUSU SKIM PADA SPERMA BEKU TERHADAP TUDUNG AKROSUM UTUH DAN MEMBRAN PLASMA UTUH SPERMAZOA DOMBA PRIANGAN

The Effect of Vitamine E Utilization in Skimmed Milk Dilution of Frozen Sperm to Priangan Sheep's Spermatozoa Acrosome Integrity and Membrane Integrity Quality

Sri Teguh Waluyo
Widyaiswara Ahli Utama

Diterima:

Disetujui terbit:

ABSTRACT

The objective of this research is to know the optimal concentration level of vitamine E in the skimmed milk dilution against sperm quality of frozen sperm of Priangan sheep. The research was done in the Laboratory of Artificial Insemination Institution, Lembang, Bandung, from November 2017 up to January 2018. In the experiment, sperm 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 µg vitamine E and without vitamine E per milliliter as control. The experimental method used was Completely Randomized Design continued by Duncan multiple rank test with 5% significancy level. Observed variable was sperm quality measured after dilution and equilibration, and after thawing with include percentage of intact plasma membrane and spermatozoa intact head acrosome. The result of experiment show that percentage of motility and life spermatozoa after dilution were not significantly after treatment ($P>0.05$). After equilibration and thawing resulted the highest percentage of motility and life in the treatment of E_{30} (72.00 and 54.00 %), and (82.20 and 67.60%) significantly different compared to the other treatment ($P<0.05$), except with E_{20} (not significantly different/ $P>0.05$). After equilibration the treatment E_{30} had the highest percentage of plasma membrane and significantly different with the other treatment ($P<0.05$), except with E_{40} which was not significantly different ($P>0.05$), and percentage of intact head acrosome was significantly different compared with the other treatment ($P<0.05$). Where as post thawing P_{30} had the highest percentage of intact plasma membrane and intact head acrosome (61.20 and 65.20) compared to the other treatment ($P<0.05$).

Key words: Vitamine E, sperm, skimmed milk dilution

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi Vitamin E yang optimal pada pengencer susu skim dan pengaruhnya terhadap kualitas sperma 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, sperma 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 µg vitamin E per mililiter. Metode eksperimen dilakukan dengan menggunakan rancangan dasar RAL, yang dilanjutkan uji jarak berganda Duncan dengan taraf nyata 5%. Peubah yang diamati adalah kualitas spermatozoa yang diukur setelah pengenceran, setelah ekuilibrasi, serta setelah pencairan kembali yang meliputi persentase MPU, dan persentase TAU spermatozoa. Hasil percobaan menunjukkan bahwa persentase MPU dan persentase TAU tertinggi pasca pengenceran terdapat pada perlakuan E_{30} (masing-masing 76,20 dan 91,30); berbeda nyata dengan perlakuan yang lainnya ($P<0,05$), kecuali dengan E_{20} berbeda tidak nyata ($P>0,05$). Pada pasca ekuilibrasi, perlakuan E_{30} mempunyai persentase MPU tertinggi dan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya ($P<0,05$), kecuali dengan E_{40} berbeda tidak nyata ($P>0,05$), dan persentase TAU berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan lainnya ($P<0,05$). Sedangkan pada pasca pencairan kembali, E_{30} mempunyai persentase MPU dan persentase TAU tertinggi (masing-masing 61,20 dan 65,20) dibandingkan dengan perlakuan lainnya ($P<0,05$).

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 (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, terutama pada bagian membran dan akrosom, kehilangan motilitas, 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 asam amino yang tinggi konsentrasinya dalam saluran testis (Setchell *et al.*,1993) dan 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.*,1992). Oleh karena itu, penambahan vitamin E dalam pengenceran sperma diharapkan dapat meningkatkan kualitas spermatozoa setelah pengenceran, ekuilibrisasi dan pencairan kembali.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di Balai Inseminasi Buatan, Lembang, Bandung, dengan menggunakan materi lima domba Priangan berumur 2 - 3 tahun dengan rataan 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 ($E_0, E_{10}, E_{20}, E_{30}, E_{40}$) dengan lima ulangan. Peubah yang diamati adalah kualitas sperma yang diukur setelah pengenceran, ekuilibrisasi, serta pencairan kembali yang meliputi persentase MPU, dan TAU. Data yang diperoleh kemudian dianalisis melalui sidik ragam yang dilanjutkan dengan uji berganda Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik sperma segar

Pada penelitian ini dilakukan evaluasi sperma segar secara makroskopis meliputi volume, warna, konsistensi, dan pH, sedangkan mikroskopis meliputi gerakan massa, konsentrasi, motilitas, sperma hidup, MPU, TAU dan abnormalitas.

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
Membran plasma utuh (MPU), (%)	77,2 ± 0,98
Tudung akrosom utuh (TAU), (%)	89,8 ± 1,94
Abnormalitas, (%)	8 ± 1,09

Secara makroskopis maupun mikroskopis sperma domba yang digunakan dengan kualitas baik, sehingga dapat diproses lebih lanjut.

Karakteristik sperma setelah diproses Persentase MPU dan TAU

Tabel 2. Rataan persentase MPU dan TAU spermatozoa sesuai perlakuan dan tahap pengolahan sperma.

Perlakuan	Tahap Pengolahan		
	Pengenceran	Ekuilibrasi	Pencairan kembali
<i>Persentase MPU</i>			
E ₀ = tanpa vit E	73,20 ± 1,15 ^a	54,80 ± 3,70 ^a	45,90 ± 2,70 ^a
E ₁₀ = 10 µg vit E	73,40 ± 1,78 ^a	57,70 ± 1,60 ^{ab}	53,30 ± 2,25 ^b
E ₂₀ = 20 µg vit E	74,80 ± 1,48 ^{ab}	59,10 ± 2,04 ^b	55,50 ± 1,66 ^b
E ₃₀ = 30 µg vit E	76,20 ± 0,57 ^b	63,50 ± 2,45 ^c	61,20 ± 4,04 ^c
E ₄₀ = 40 µg vit E	74,40 ± 0,65 ^a	60,60 ± 1,39 ^{bc}	56,20 ± 2,77 ^b
<i>Persentase TAU</i>			
E ₀ = tanpa vit E	85,50 ± 1,00 ^a	77,70 ± 1,68 ^a	50,30 ± 1,15 ^a
E ₁₀ = 10 µg vit E	88,50 ± 0,79 ^b	83,00 ± 1,46 ^b	57,40 ± 1,92 ^b
E ₂₀ = 20 µg vit E	90,30 ± 0,57 ^{cd}	85,70 ± 1,99 ^c	58,30 ± 2,28 ^b
E ₃₀ = 30 µg vit E	91,30 ± 0,76 ^d	88,60 ± 1,02 ^d	65,20 ± 0,84 ^d
E ₄₀ = 40 µg vit E	89,80 ± 0,57 ^c	86,10 ± 1,34 ^c	61,80 ± 2,39 ^c

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

Tabel di atas menunjukkan bahwa pasca pengenceran, rata-rata persentase MPU pada E₃₀ (76,20) lebih tinggi daripada E₀, E₁₀, E₄₀ (73,20, 73,40, dan 74,40) berbeda nyata (P<0,05), tetapi antara E₃₀ dengan E₂₀ (74,80) berbeda tidak nyata (P>0,05), begitu juga antara E₀, E₁₀, E₂₀, dan E₄₀ berbeda tidak nyata (P>0,05).

Pasca ekuilibrasi, rata-rata persentase MPU pada E₃₀ (63,50) lebih tinggi daripada E₀, E₁₀, E₂₀, dan E₄₀ (54,80, 57,70, 59,10 dan 60,60) berbeda nyata (P<0,05), tetapi antara E₃₀ dengan E₄₀ berbeda tidak nyata (P>0,05), begitu juga antara E₀ dengan E₁₀ berbeda tidak nyata (P>0,05), dan antara E₁₀, E₂₀, dan E₄₀ berbeda tidak nyata (P>0,05). Pada pasca pencairan kembali, rata-rata persentase MPU pada E₃₀ (61,20) lebih tinggi daripada E₀, E₁₀, E₂₀, E₄₀ (45,90, 53,30, 55,50 dan 56,20) berbeda nyata (P<0,05), tetapi antara E₁₀, E₂₀, E₄₀ 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).

Hasil analisis statistik persentase TAU pasca pengenceran menunjukkan rata-rata persentase TAU pada E₃₀ (91,30) lebih tinggi daripada E₀, E₁₀, E₄₀ (masing-masing 85,50, 88,50, dan 89,80). Ini berbeda nyata (P<0,05). Tetapi antara E₃₀ dengan E₂₀ (90,30) berbeda tidak nyata (P>0,05), begitu juga antara E₁₀, E₂₀, dan E₄₀ berbeda tidak nyata (P>0,05). Pasca ekuilibrasi, rata-rata persentase TAU pada E₃₀ (88,60) lebih tinggi daripada E₀, E₁₀, E₂₀, dan E₄₀ (77,70, 83,00, 85,70 dan 86,10). Ini berbeda nyata (P<0,05). Tetapi antara E₂₀ dengan E₄₀ berbeda tidak nyata (P>0,05). Namun antara E₀ dengan E₁₀, E₂₀, E₄₀ berbeda nyata (P<0,05), begitu juga antara E₁₀ dengan E₂₀, E₄₀ berbeda nyata (P<0,05). Pasca pencairan kembali, rata-rata persentase TAU E₃₀ (65,20) lebih tinggi daripada E₀, E₁₀, E₂₀, dan E₄₀ (50,30, 57,40, 58,30 dan 61,80). Ini berbeda nyata (P<0,05). Begitu juga antara E₄₀ dengan E₀, E₁₀, E₂₀ berbeda nyata (P<0,05). Namun antara E₁₀ dengan E₂₀ 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).

Peroksidasi lipid menyebabkan kerusakan pada membran plasma spermatozoa. Kondisi ini akan mengganggu transpor aktif glukosa, asam amino dan asam lemak ke dalam sel. Pada keadaan tidak tercukupinya energi sebagai akibat dari terganggunya zat-zat sumber energi, menyebabkan daya tahan spermatozoa menurun dan menyebabkan kematian. Rusaknya membran plasma juga menyebabkan terganggunya keseimbangan ion kalsium yang dapat menurunkan spermatozoa hidup.

Glukosa sebagai krioprotektan dapat berinteraksi dengan membran sel. Interaksi ini dapat mengurangi kerusakan membran sel dan tudung akrosom pada saat terjadi perubahan keadaan dari struktur yang relatif cair ke padat pada saat pembekuan atau lebih penting lagi pada saat pencairan kembali. Interaksi krioprotektan akan menjadikan membran plasma lebih lentur dan tidak rapuh, sehingga kerusakan yang tidak dapat dikembalikan lagi karena retak dapat diatasi. Disamping itu, susu skim mengandung vitamin E yang dapat berfungsi sebagai antioksidan. Vitamin E dapat menetralkan pengaruh buruk dari peroksidasi lipid, sehingga dapat mempertahankan kondisi membran plasma dan tudung akrosom dalam keadaan utuh. Vitamin E dalam fungsinya sebagai antioksidan akan mengikat oksigen radikal bebas yang terdapat dalam plasma semen maupun pada spermatozoa sehingga menghambat proses peroksidasi lipid (Beconi et al., 1993). Voet dan Voet (1990) menyatakan bahwa lipoprotein merupakan partikel nonkovalen yang berasosiasi dengan lipid dan protein membentuk dua lapis lipid. Vitamin E membentuk glutamat melalui pembentukan α -ketoglutarat, yang masuk dalam siklus asam sitrat untuk menjalani proses oksidasi sempurna menjadi CO_2 dan H_2O dengan pelepasan

ATP. Disamping itu pada proses fosforilasi oksidatif dalam siklus asam sitrat, piruvat yang dihasilkan menyediakan kerangka karbon bagi sintesis asam amino, dan asetil CoA merupakan unsur pembentuk asam lemak rantai panjang, sehingga keadaan membran plasma menjadi tidak rusak (Murray et al., 2003). Oleh karena itu, lipoprotein memberikan perlindungan pada spermatozoa melalui penempelan dengan kuat pada membran plasma spermatozoa.

KESIMPULAN

Pengencer susu skim memenuhi persyaratan untuk krioperservasi sperma domba. Penambahan vitamin E ke dalam bahan pengencer susu skim dapat mempertahankan kualitas spermatozoa pada sperma beku untuk mempertahankan persentase MPU dan TAU.

Penambahan vitamin E dengan dosis 30 μg per milliliter ke dalam pengencer susu skim memberikan hasil yang lebih baik daripada dosis lainnya maupun tanpa vitamin E.

DAFTAR PUSTAKA

- Jones, R. C. and T. Mann. 1977. *Toxicity of exogenous fatty acid peroxides towards spermatozoa. J. Reprod. Fertil.* 50: 255-260.
- Jones, R. C. and T. Mann and R.J. Sherrins. 1979. *Peroxidative breakdown of phospholipids in human spermatozoa: Spermicidal Effects Of Fatty Acid Peroxides And Protective Action Of Seminal Plasma. Fertil Steril.* 31:531-537.
- Pursel, V. G. 1979. *Effect Of Cold Shock On Boar Sperm Treated With Butylated Hydroxitoluene.* Biol. Reprod. 21:319-325.
- Murray, R. K., D. K. Granner, P. A. Mayes and V. W. Rodwell. 2003. *Biokimia Harper.* Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta
- Salamon, S. and W. M. C. Maxwell. 1995b. *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, L.G. Mawell. W. M.C, Paleg, L.G and Setchell., B.P. 1992. *Vitamin E and glycinebutanine in cryoprotective diluents for ram spermatozoa, Reproduction and Fertility Development, 4: 113-118.*
- Sanchez-Partida, L.G. Setchell., B.P. and Maxwell. W.M.C. 1996. *Effect of compatible solutes and diluent composition on the post-thaw motility of ram sperm. Reproduction and Fertility Development, 4: 347-358.*
- Sanchez-Partida, L.G. Windsor. D. P. Eppleston, J. Setchell., B.P. and Maxwell, W.M.C. 1999. *Fertility and its relationship to motility characteristics of spermatozoa in ewe after cervical, transcervical, and intrauterine insemination with frozen-thawed ram semen. Journal of Andrologi. Vol 20. 2: 280-288.*
- Setchell, B. P. Sanchez-Partida and A. Chaerussyukur, 1993, Epididimis constituenst and related substances in the storage of spermatozoa: Review. *Reproduction and Fertility Development, 5. 601-612.*
- Tomaszweska, M. W., I. K. Utama, I.G. Putu, T.D. Caniago. 1991. *Reproduksi Tingkah Laku dan Produksi Ternak di Indonesia.* P.T. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Tomaszweska, M. W., I. M. Mastika, A. Djajanegara, S. Gardiner dan T. R. Wiradarya. 1993. *Reproduksi Kambing Dan Domba Di Indonesia.* Sebelas Maret University Press.
- Voet, D. and J. Voet. 1990. *Biochemistry.* John Weley and Sons. New York, Chichester, Brisbane, Toronto and Singapore.
- Wijaya, A. 1996. *Radikal bebas dan parameter status antioksidan.* Forum diagnosticum No.1, Laboratorium Klinik Prodia.