

PENGUJIAN DAYA TAHAN *SPERMATOZOA* SEMEN BEKU KAMBING DAN DOMBA SETELAH *THAWING*

RESISTENCY TEST OF POST-THAWING *SPERMATOZOA* IN BUCK AND RAM FROZEN SEMEN

Sri Gustari

Bagian Reproduksi dan Kebidanan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada, Sekip Unit II Yogyakarta 55281
Telp./Fax. (0274) 563083

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menguji daya tahan hidup dan motilitas sperma setelah dibekukan dan di-*thawing* kembali. Semen beku kambing dan domba masing-masing di-*thawing* dan diperiksa di dalam dan di luar laboratorium. Setiap perlakuan terdiri dari 10 sampel *straw*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada semen beku kambing yang di-*thawing* di dalam dan di luar laboratorium tidak ada perbedaan nyata ($P > 0,05$) dalam hal motilitas dan persentase hidup sperma. Semen beku kambing yang di-*thawing* di dalam laboratorium dapat bertahan sampai dengan jam ke-10 setelah *thawing*, sedang yang di-*thawing* di luar bertahan sampai dengan jam ke-6 setelah *thawing*. Pada semen beku domba yang di-*thawing* di dalam dan di luar laboratorium ada perbedaan nyata ($P < 0,05$) dalam hal motilitas dan persentase hidup sperma. Semen beku domba yang di-*thawing* di dalam laboratorium dapat bertahan sampai dengan jam ke-10 setelah *thawing*, sedang yang di-*thawing* di luar laboratorium bertahan hanya sampai dengan jam ke-4 setelah *thawing*.

Kata kunci: kambing, domba, spermatozoa, semen beku, *thawing*

ABSTRACT

The present research examined the viability and motility of buck and ram sperms after freezing and thawing. Buck and ram frozen semen were thawed and evaluated inside and outside laboratory. A number of 10 straws were used for each treatment. The result showed that there were no significant difference ($P > 0.05$) in the motility and live percentages of buck frozen semen which is thawed inside and outside laboratory. In buck frozen semen thawed inside laboratory there were few sperms still alive up to 10 hours post-thawing, while semen thawed outside laboratory only alive up to 6 hours post-thawing. In ram frozen semen there were significant difference ($P < 0.05$) in motility and live percentages of semen thawed inside and outside laboratory. Ram semen thawed inside laboratory still alive up to 10 hours post-thawing, while semen thawed outside laboratory only alive up to 4 hours post-thawing.

Key words: buck, ram, spermatozoa, frozen semen, post-thawing

PENDAHULUAN

Inseminasi buatan (IB) pada domba menggunakan semen beku hasilnya masih belum memuaskan. Fertilitas semen beku domba setelah inseminasi dalam servik di lapangan didapatkan angka kelahiran 25 - 45 %, sedangkan di bawah kondisi penelitian angka kelahirannya 50 - 55 % (Evans and Maxwell, 1987). Hal itu masih di bawah angka kelahiran inseminasi buatan menggunakan semen segar yaitu 65 - 75 % (Evans and Maxwell, 1987). Hasil penelitian tahun 1999 oleh Gustari dan Prihatno menunjukkan tingkat kelahiran dari IB

24 jam setelah inseminasi (Evans and Maxwell, 1987). Menurut Hafez and Hafez (2000) pada sapi sperma memasuki oviduk dalam waktu 2 jam setelah kawin, namun baru ditemukan di ampulla setelah 8 jam. Selanjutnya dikatakan bahwa pada perkawinan alam, tingkat kecepatan transport sperma merupakan faktor kritis yang menentukan konsepsi. Oleh karena itu maka penelitian ini dimaksudkan untuk menguji daya tahan sperma kambing dan domba setelah dibekukan dan *dithawing* kembali, sehingga akan dapat meningkatkan hasil IB.

Tabel 1. Rata-rata (\pm SD) motilitas sperma semen beku kambing dan domba yang *dithawing* di dalam dan di luar laboratorium.

Jam ke (pasca <i>thawing</i>)	Kambing N=10		Domba N=10	
	Dalam (%)	Luar (%)	Dalam (%)	Luar (%)
0	38,0 + 14,7 ^a	37,0 + 4,8 ^a	42,5 + 14,4 ^a	34,0 + 6,9 ^c
2	35,0 + 14,3 ^a	20,0 + 10,5 ^a	43,0 + 14,2 ^a	8,0 + 5,8 ^c
4	16,5 + 16,3	8,0 + 4,8	32,0 + 16,8 ^a	0
6	5	2,5 ^b	12,0	0
8	1,5 ^b	0	3 ^b	0
10	0,5 ^b	0	1 ^b	0

Superskrip yang berbeda di dalam satu kolom/baris berbeda secara nyata ($P < 0.05$)

pada kambing menggunakan semen beku adalah sekitar 50%. Selanjutnya dijelaskan bahwa fertilitas semen beku yang rendah tersebut ada hubungannya dengan penurunan viabilitas sperma dari semen beku setelah *thawing* (Evans and Maxwell, 1987), agar bila kemudian ternyata ditemukan daya tahan hidup sperma setelah dibekukan tidak baik maka akan dapat dicari upaya untuk memperbaikinya, sehingga akan dapat meningkatkan hasil IB.

Prinsip pembuatan semen beku sapi tampaknya digunakan juga untuk semen hewan lain (Dally *et al.*, 2000). Namun perkembangan IB pada hewan lain belum sepesat pada sapi (Dally *et al.*, 2000). Meskipun demikian semen domba dan kambing dapat dibuat menjadi semen beku dengan tingkat ketahanan yang baik (Dally *et al.*, 2000).

Motilitas merupakan hal yang penting bagi sperma untuk bisa menembus mukus serviks (Harper, 1988). tampaknya lipatan servik berperan sebagai reservoir yang akan memilih sperma yang mampu bertahan berjam-jam untuk melanjutkan perjalanan (Harper, 1988). Pada kambing dan domba reservoir tersebut mampu mensuplai sperma ke uterus dan oviduk selama 24 jam, dan jumlah maksimal sperma dalam oviduk dicapai pada 12 -

MATERI DAN METODA

Sebanyak 10 *straw* semen beku kambing dan 10 *straw* semen beku domba digunakan dalam penelitian ini. *Thawing* semen dilakukan di dua tempat yaitu di laboratorium dan di lapangan. Semen beku *dithawing* menggunakan air hangat pada suhu 37°C selama 1 menit (Hafez, 1987a), kemudian semen dimasukkan ke dalam tabung berisi larutan Brackett-Oliphant (B-O) (Brackett and Oliphant, 1975) dan selanjutnya diinkubasikan pada suhu 37 - 38°C. Pemeriksaan terhadap motilitas dan persentase hidup sperma dilakukan setiap 2 jam sekali sebanyak 5 kali (sampai dengan 10 jam). Pemeriksaan motilitas sperma dilakukan seperti yang dijelaskan oleh Hafez (1987b) dengan cara meneteskan semen di atas gelas obyektif dan ditutup dengan gelas penutup, kemudian dilihat di bawah mikroskop. Dalam satu bidang pandangan persentase sperma yang bergerak maju dihitung, penghitungan dilakukan sebanyak 3 kali kemudian diambil rata-ratanya. Pemeriksaan persentase hidup sperma dilakukan dengan cara pengecatan menggunakan cat eosin-nigrosin (Evans and Maxwell, 1987). Sperma yang hidup akan terlihat

transparan, sedangkan yang mati akan terlihat berwarna merah. Penghitungan dilakukan secara acak terhadap 200 sperma, kemudian dicari persentasenya.

Rancangan percobaan yang digunakan adalah splitplot dari data yang diperoleh akan dianalisis secara statistik menggunakan Anova.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan semen beku kambing domba setelah *thawing* di dalam dan di luar laboratorium dapat dilihat pada Tabel 1. dan Tabel 2.

oleh banyak faktor diantaranya temperatur, kelembaban udara, dan cahaya. Menurut Evans dan Maxwell (1987) semen harus dihindarkan dari pengaruh sinar matahari dan perubahan temperatur, karena dapat membunuh sperma. Berdasarkan hal itu maka dapat dimengerti kalau semen beku yang *dithawing* di dalam laboratorium motilitasnya bertahan lebih lama bila dibandingkan dengan yang *dithawing* di luar laboratorium. Temperatur inkubator saat pengujian semen di laboratorium adalah 38°C dengan tingkat kelembaban 90% . Temperatur inkubator tersebut hampir sama dengan temperatur air saat *thawing* yaitu 37 (Hafez, 1987a), sehingga tidak terjadi perubahan temperatur yang

Tabel 2. Rata-rata (\pm SD) persentase hidup sperma kambing dan domba setelah *thawing* di dalam dan di luar laboratorium.

Jam ke (pasca <i>thawing</i>)	Kambing N=10		Domba N=10	
	Dalam (%)	Luar (%)	Dalam (%)	Luar (%)
0	65,1 + 8,4 ^a	69,9 + 6,5 ^a	69,9 + 4,7 ^a	64,1 + 5,7 ^a
2	60,3 + 9,7 ^a	43,1 + 13,7 ^a	61,1 + 2,5 ^a	26,9 + 7,5 ^c
4	31,3 + 23,5	20,9 + 9,9	54,5 + 5,5 ^a	5,6 + 4,4 ^c
6	14,5 + 19,5	8,8	29,1 + 15,5	0,4
8	4,4 ^b	1,5	7,9 ^b	0
10	1,6 ^b	0	0,6 ^b	0

Superskrip yang berbeda di dalam satu kolom/baris berbeda secara nyata ($P < 0,05$)

Setelah diuji secara statistik ternyata bahwa motilitas dan persen hidup sperma kambing yang di *thawing* di dalam dan di luar laboratorium tidak berbeda nyata ($P > 0,05$), tetapi ada perbedaan diantara periode waktu *thawing* ($P < 0,05$). Pada semen beku kambing yang *dithawing* di dalam laboratorium masih ada sperma yang bisa bertahan hidup sampai jam ke 10 setelah *thawing* sedangkan yang di luar laboratorium sperma bertahan hidup sampai jam ke 8 setelah *thawing*. Pada semen domba yang di *thawing* di luar dan di dalam laboratorium, motilitas dan persen hidup sperma ada perbedaan yang nyata baik secara keseluruhan maupun antar periode waktu ($P < 0,05$). Semen beku domba yang *dithawing* di dalam laboratorium masih bisa bertahan hidup sampai jam ke 10 setelah *thawing* sedangkan semen yang *dithawing* di luar laboratorium hanya bertahan hidup sampai jam ke 4 setelah *thawing*.

Baik semen kambing maupun domba ada perbedaan ketahanan motilitas spermanya setelah *thawing* di dalam dan di luar laboratorium, meskipun secara statistik pada kambing perbedaannya tidak nyata. Hal itu bisa disebabkan

mendadak. Hal itu membuat sperma mampu bertahan lebih lama. Sebaliknya temperatur di luar laboratorium adalah 29°C dengan tingkat kelembaban 84%, sehingga terjadi perubahan mendadak dari temperatur *thawing*, akibatnya sperma cepat mati.

Dalam hal persentase hidup sperma kambing setelah *thawing* di dalam dan diluar laboratorium meskipun tidak berbeda nyata, namun dari data terlihat ada perbedaan. Semen kambing yang *dithawing* di dalam laboratorium mampu bertahan sampai jam ke 10 setelah *thawing*, sedangkan yang *dithawing* diluar laboratorium hanya bertahan sampai dengan jam ke-8 setelah *thawing*. Pada semen domba yang *dithawing* di dalam dan di luar berbeda nyata ($P < 0,05$) dalam hal persentase hidup sperma baik keseluruhan maupun antar periode waktu. Seperti halnya pada motilitas, maka persentase hidup sperma domba yang di *thawing* di luar laboratorium juga mengalami penurunan secara cepat yaitu dari 64,1% pada jam ke-0 menjadi 26,9% pada jam ke-2 dan kemudian menjadi 5,6% pada jam ke-4.

Di antara kambing dan domba tampaknya semen kambing lebih tahan lama bila di *thawing* diluar laboratorium dan secara statistik memang ada perbedaan nyata ($P < 0,05$), namun untuk *thawing* di dalam laboratorium motilitasnya tidak ada perbedaan nyata hanya persen hidup sperma yang berbeda nyata. Perbedaan tersebut kemungkinan disebabkan oleh perbedaan daya tahan sperma pada saat proses pembekuan. Hal itu sesuai dengan pendapat Bearden dan Fuquay (1984) bahwa kualitas semen itu dipengaruhi oleh bangsa, penanganan pasca koleksi dan lingkungan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa motilitas dan persentase hidup sperma dari semen beku kambing yang di*thawing* di dalam dan diluar laboratorium secara keseluruhan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$), akan tetapi ada perbedaan nyata diantara periode waktu ($P < 0,05$). Sedangkan pada semen domba yang di*thawing* di dalam dan di luar laboratorium, motilitas dan persentase hidup sperma ada perbedaan nyata ($P < 0,05$) baik secara keseluruhan maupun antar periode waktu. Diantara semen beku kambing dan domba tampaknya semen beku kambing lebih tahan lama bila *thawing* di luar laboratorium dan secara statistik memang berbeda nyata ($P < 0,05$).

Tampaknya penelitian lanjutan masih diperlukan untuk mencari faktor-faktor yang berpengaruh terhadap kualitas semen beku kambing dan domba, juga tentang penyebab penurunan kualitas semen beku yang sangat mencolok pada jam ke 4 setelah *thawing*. Mungkin diperlukan pengujian sejenis tetapi dengan interval pemeriksaan yang lebih pendek misalnya 1 jam.

DAFTAR PUSTAKA

Bearden, H.J., dan Fuquay, J.W., 1984. *Applied animal reproduction*. Reston Publishing Company, Inc. A Prentice - Hall Company, Reston, Virginia.

Brackett B.G. and Oliphant G., 1975. Capacitation of rabbit spermatozoa in vitro. *Biol. Reprod.* 12:260-274.

Dally R.L.Ax.M.R., Didion B.A., Lenz R.W., Love C.C., Varner D.D., Hafez B., and Bellin M.E., 2000. Semen evaluation. In *Reproduction in Farm, Animals*. 7th. Ed. E.S.E. Hafez, 1987. Lea and Febiger, Philadelphia.

Evens, G. dan Maxwell, W.M.C., 1987. *Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats*. Butter Worths, London.

Gustari, S. dan Prihatno, S.A., 1999. *Pengaruh Thawing dan Waktu Inseminasi Terhadap Fertilitas Semen Beku Kambing*. Laporan Penelitian, FKH-UGM, Yogyakarta. Tidak dipublikasikan.

Hafez E.S.E., 1987a. Preservation and cryopreservation of gametes and embryos. In *Reproduction in Farm, Animals*. 6th. Ed. E.S.E. Hafez. Lea and Febiger, Philadelphia.

Hafez E.S.E., 1987b. Semen Evaluation. In *Reproduction in Farm, Animals*. 6th. Ed. E.S.E. Hafez. Lea and Febiger, Philadelphia.

Hafez E.S.E. and Hafez B., 2000. Transport and survival of gametes. In *Reproduction in Farm, Animals*. 7th. Ed. B. Hafez/E.S.E. Hafez. Lea and Febiger, Philadelphia.

Harper, M.J.K., 1988. Gemetes and Zygote Transport. In *The Physiology of Reproduction*, Vol. I. Edited by Ernsts Knobil and Jimmy D. Neil. Reven Press, New York.