

**PENGARUH PENAMBAHAN DOSIS RAFINOSA DALAM PENGECER SUSU SKIM
TERHADAP MOTILITAS, PERSENTASE HIDUP DAN ABNORMALITAS
SPERMATOZOA SAPI ONGOLE**

The Effect of Addition Raffinose Doses in Skim Milk Diluent for Motility, Percentage of Live and Abnormalities Spermatozoa Ongole Cattle

Indah Iftinandari Munzir^a, Sri Suharyati^b, dan Madi Hartono^b

^aThe Student of Department of Animal Husbandry Faculty of Agriculture Lampung University

^b The Lecture of Department of Animal Husbandry Faculty of Agriculture Lampung University

Department of Animal Husbandry, Faculty of Agriculture Lampung University

Soemantri Brojonegoro No.1 Gedong Meneng Bandar Lampung 35145

e-mail : inaaim21@gmail.com

ABSTRACT

Studies conducted in the Technical Services Unit Regional Center for Artificial Insemination Regions (UPTD-BIBD) Lampung, RegencyTerbanggiBesar, Central LampungRegency, Lampung Province in May 2016 aims to determine the effect of dose raffinosa in dilution of skim milk on motility, abnormality and the percentage of spermatozoa Ongole cattle alive. The experimental design used was completely randomized design with 6 treatments of 0.5%; 1.0%; 1.5%; 2.0%; 2.5%; 3.0% in diluent and skim milk respectively -masing treatment be repeated 4 times. The data obtained were analyzed using analysis of varian at significance level of 5% or 1%, and for variable real test of orthogonal polynomials on the real level of 5% or 1% to determine the optimum dose raffinosa. The results showed that increasing doses raffinosa give effect not significantly different ($P > 0.05$) on percentage motility after equilibration and prefreezing, the percentage of live sperm after equilibration and prefreezing, as well as the percentage of spermatozoa abnormalities after prefreezing, and PTM, but give effect highly significant ($P < 0.01$) on the percentage of sperm motility PTM, the percentage of live sperm PTM, and the percentage of abnormal spermatozoa after equilibration. Extra doses of raffinose based test pattern orthogonal polynomial regression on percentage motility PTM equation $\bar{y} = 25.08 + 4x$, the percentage of live sperm PTM equation $\bar{y} = 22.55 + 5,77x$, and the percentage of abnormal spermatozoa after equilibration with the equation $\bar{y} = 6,36 - 1,71x$.

Keywords: Raffinose, Skim Milk, Motility, Percentage of Live, Abnormalities Spermatozoa, Ongole Cattle

PENDAHULUAN

Jumlah penduduk di Indonesia yang semakin bertambah membuat kebutuhan bahan pangan semakin meningkat. Salah satu kebutuhan pangan berasal dari protein hewani. Pemenuhan kebutuhan protein hewani dapat dilakukan dengan meningkatkan populasi ternak daging. Salah satu ternak yang berpotensi menghasilkan daging adalah sapi Ongole.

Sapi Ongole merupakan sapi dari golongan *Bos sondaicus* yang berhasil dijinakkan di India. Sapi ongole mampu beradaptasi terhadap pakan yang jelek, pertumbuhan yang relatif cepat dengan presentase karkas yang baik. Tinggi sapi jantan dapat mencapai 150 cm dengan bobot badan 600-750 kg, sedangkan betina dewasa

dapat mencapai tinggi badan 135cm dengan bobot badan 450-600 kg (Burhan. 2003).

Salah satu teknologi yang dapat digunakan untuk meningkatkan populasi sapi Ongole adalah teknik Inseminasi Buatan (IB). Keberhasilan IB dipengaruhi oleh kualitas semen. Semen yang baik serta layak untuk inseminasi dapat dipertahankan dengan cara pengawetan semen yaitu dengan melakukan pengenceran semen.

Bahan pengencer yang dapat digunakan untuk pengenceran semen salah satunya adalah susu skim. Susu skim mengandung zat nutrisi yang dapat dimanfaatkan oleh spermatozoa sebagai sumber energi. Selain itu, susu skim juga mengandung zat lipoprotein dan lesitin sehingga bisa digunakan untuk melindungi spermatozoa dari pengaruh kejutan dingin (*cold shock*).

Penggunaan susu skim dalam pengencer semen belum mencukupi untuk mempertahankan kualitas semen. Hal tersebut dapat diatasi dengan penambahan senyawa lain dalam pengencer, salah satunya adalah karbohidrat. Menurut Salisbury dan Van Demark (1985), penambahan karbohidrat merupakan salah satu hal yang sangat berarti bagi penyediaan energi untuk spermatozoa. Beberapa jenis karbohidrat yang dapat digunakan dalam pengencer adalah glukosa, fruktosa, laktosa, dan rafinosa.

Rafinosa merupakan suatu trisakarida yang penting, terdiri dari galaktosa, glukosa, dan fruktosa. Penambahan rafinosa di dalam pengencer dapat menyimpan cadangan energi dalam jumlah yang lebih banyak, sehingga dapat digunakan oleh spermatozoa dalam waktu yang lebih lama. Akan tetapi penambahan dosis rafinosa dalam pengencer susu skim sampai saat ini belum dilakukan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian terhadap penambahan dosis rafinosa pada pengencer susu skim pada semen beku sapi Ongole.

MATERI DAN METODE

Materi

Peralatan yang digunakan adalah vagina buatan, tabung penampung berskala dengan ketelitian 0,1 ml, labu didih dan penangas, timbangan elektrik merek Cook master electronic kitchen scale No: GP KS043 dengan ketelitian 0,01 g, termometer, spatula, corong, gelas ukur dan tutupnya, kertas label, kertas whatman, waterbath, object dan cover glass, spektrofotometer minitube, micropipet dengan ketelitian 0,1 ml, beaker glass, tabung erlenmeyer, coolant, mesin filling and sealing, pH meter, boks untuk prefreezing dan freezing, mikroskop, tisu, counter number, stopwatch, dan kontainer, serta alat tulis.

Bahan yang digunakan adalah semen yang dikoleksi dari satu pejantan sapi Ongole, susu skim, aquabidestilata, penisilin 1000 IU dan streptomycin 0,1 g, gliserol, fruktosa 1 g, kuning telur 5 ml, rafinosa (0,5%; 1,0%; 1,5%; 2,0%; 2,5% dan 3,0%), nitrogen cair, NaCl Fisiologis, NaCl 3%, pewarna eosin 2% dan air hangat untuk proses thawing.

Metode

Metode penelian ini dimulai dengan penampungan semen menggunakan vagina buatan dan segera diperiksa secara makroskopis (warna, bau, volume, pH, dan konsistensi semen segar) dan mikroskopis

(motilitas massa, motilitas individu, konsentrasi, persentase spermatozoa hidup, dan abnormalitas spermatozoa). Semen segar yang memenuhi syarat akan diproses lebih lanjut ke proses pengenceran.

Pembuatan pengencer susu skim terdiri dari 4 tahapan, yaitu pembuatan *buffer* skim, pembuatan *buffer* antibiotik, pembuatan part A yang terdiri atas *buffer* skim antibiotik dan kuning telur, dan pembuatan part B terdiri dari gliserol, *buffer* antibiotik, kuning telur, dan fruktosa. Kemudian dibagi menjadi 6 dengan masing-masing 10 ml lalu tiap bagian ditambahkan dosis rafinosa yang berbeda yaitu 0,5%; 1,0%; 1,5%; 2,0%; 2,5%; dan 3,0%.

Semen yang telah diencerkan kemudian di ekuilibrasikan selama 4 jam pada suhu 5—6°C setelah ekuilibrasikan dilakukan pemeriksaan motilitas, persentase hidup, dan abnormalitas spermatozoa. Semen dikemas melalui proses filling dan sealing. Pembekuan semen diawali dengan proses prefreezing selama 9 menit pada suhu -140°C, kemudian dilakukan evaluasi setelah prefreezing yang meliputi motilitas, persentase hidup, dan abnormalitas spermatozoa. proses selanjutnya adalah freezing dalam nitrogen cair selama 1 hari yang kemudian dilakukan evaluasi PTM yang meliputi motilitas, persentase hidup, dan abnormalitas spermatozoa.

Peubah yang Diamati

Peubah yang diamati dalam penelitian ini adalah

1. Motilitas spermatozoa
Standar penilaian gerakan individu yang terlihat di bawah mikroskop adalah 0—100%.

2. Persentase spermatozoa hidup
dihitung dengan rumus:

$$\text{spermatozoa Hidup}(\%) = \frac{\text{jumlah spermatozoa hidup}}{\text{jumlah total spermatozoa}} \times 100\%$$

(Mumu, 2009)

3. Abnormalitas spermatozoa
dihitung dengan rumus:

$$\text{abnormalitas}(\%) = \frac{\text{jumlah spermatozoa abnormal}}{\text{jumlah sel spermatozoa keseluruhan}} \times 100\%$$

(Salmah, 2014).

Rancangan Penelitian

Rancangan percobaan pada penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 kali perlakuan dengan 4 kali pengulangan. Data yang

diperoleh akan dianalisis ragam pada taraf nyata 5% dan atau 1% dan apabila terdapat pengaruh yang nyata akan dilanjutkan dengan uji Polinomial Ortogonal (Steel dan Torrie 1993).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penilaian Kualitas Semen Segar Sapi Ongole

Hasil pemeriksaan memperlihatkan bahwa semen semen segar sapi Ongole yang diperoleh cukup baik (Tabel 1) sehingga dapat diproses lebih lanjut.

Hasil pemeriksaan semen segar ini menunjukkan volume semen yang tertampung sebesar 5,5 ml. Hasil ini tergolong pada kisaran normal volume semen segar sapi yang baik untuk diproses lebih lanjut. Hal ini sesuai dengan pendapat Feradis (2010) yang menyatakan bahwa volum semen sapi berkisar antara 5—8 ml.

Tabel 1. Kualitas semen segar sapi Ongole

Parameter	Nilai
Volume (ml)	5,5
Warna	Putih Susu
Bau	Khas
Konsistensi	Kental
pH	7
Motilitas Massa	+++
Konsentrasi (juta/ml)	1.876
Motilitas Individu (%)	75
Spermatozoa Hidup (%)	85,60
Abnormalitas (%)	1,8

Hasil pemeriksaan semen segar ini menunjukkan volume semen yang tertampung sebesar 5,5 ml. Hasil ini tergolong pada kisaran normal volume semen segar sapi yang baik untuk diproses lebih lanjut. Hal ini sesuai dengan pendapat Feradis (2010) yang menyatakan bahwa volum semen sapi berkisar antara 5—8 ml.

Warna semen yang ditampung adalah putih susu dan memiliki bau yang khas. Feradis (2010) menyatakan bahwa semen sapi normal berwarna putih susu atau krem keputihan dan keruh. Semen berbau khas sapi pejantan, hal ini sesuai dengan pendapat Toelihere (1993) bahwa sapi pejantan menghasilkan semen yang berbau khas.

Konsistensi atau derajat kekentalan semen yang didapatkan kental dengan konsentrasi spermatozoa 1.867 juta/ml, hal ini menunjukkan bahwa semen tersebut memiliki kualitas yang baik. Penilaian ini sesuai dengan

penilaian konsentrasi semen segar, bila konsentrasi spermatozoa 1.000—1.500 juta dikatakan sedang dan konsentrasi spermatozoa sapi yang baik berkisar $800—2.000 \times 10^6$ (Toelihere, 1993). Derajat keasaman atau pH semen adalah 7, sesuai dengan berbagai pendapat yang menyatakan bahwa pH semen segar berkisar antara 6,4--7,8 (Nalbandov, 1990).

Motilitas massa spermatozoa dari semen sapi Ongole yang ditampung adalah ++++. Hasil tersebut menunjukkan semen dalam keadaan yang baik. Hal ini sesuai dengan pendapat Toelihere (1985) yang menyatakan bahwa spermatozoa dalam keadaan baik karena terlihat seperti gelombang besar, banyak, gelap, tebal, dan aktif bertenaga.

Motilitas individu semen segar adalah 75% bergerak progresif, motilitas individu tersebut masih dalam kisaran normal, sebagaimana diungkapkan (Feradis, 2010) bahwa kebanyakan pejantan fertil mempunyai 50%—80% spermatozoa yang motil aktif progresif.

Persentase spermatozoa hidup yang didapatkan 85,60%, hasil tersebut menandakan bahwa semen ini cukup baik karena menurut Hafez (2000) persentase hidup semen sapi segar berkisar antara 60--80%. Persentase abnormalitas semen segar sebesar 1,8%, nilai ini tidak berpengaruh terhadap fertilitas dan dapat diproses untuk pembuatan semen beku. Hal ini sesuai dengan pendapat Toelihere (1993) yang menyatakan bahwa selama abnormalitas belum mencapai 20%, maka semen tersebut masih dapat dipakai untuk inseminasi.

Pengaruh Penambahan Dosis Rafinosa terhadap Kualitas Spermatozoa

Pada penelitian ini penilaian kualitas spermatozoa sapi Ongole meliputi penilaian motilitas, persentase spermatozoa hidup, dan abnormalitas spermatozoa.

1. Penilaian motilitas spermatozoa selama pembekuan

Hasil penelitian ini menunjukkan persentase motilitas spermatozoa selama proses pembekuan yang disajikan pada Tabel 2.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa penambahan rafinosa dengan dosis yang berbeda dalam pengencer susu skim terhadap persentase motilitas sapi Ongole menunjukkan hasil tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) terhadap motilitas spermatozoa selama proses ekuilibrisasi. Hal ini menunjukkan bahwa dosis rafinosa dalam pengencer susu skim belum

memberikan pengaruh selama proses ekuilibrisasi. Diduga rafinosa belum termetabolisme secara sempurna, karena rafinosa merupakan gugus trisakarida yang terdiri dari galaktosa, glukosa, dan fruktosa sehingga memerlukan waktu yang lama untuk menghasilkan energi yang dibutuhkan untuk spermatozoa.

Tabel 2. Hasil rata-ran persentase motilitas spermatozoa sapi Ongole

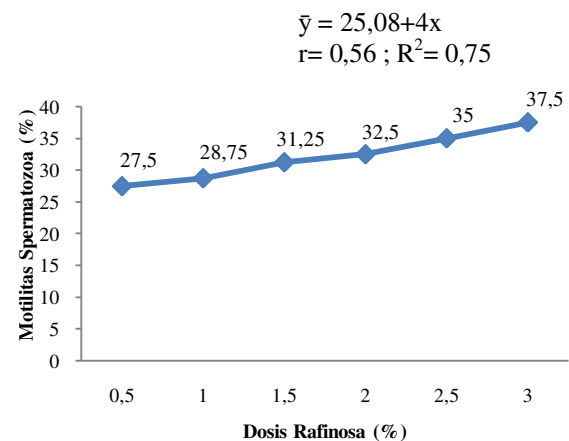
Rafinosa	Penilaian		
	Setelah Ekuilibrisasi	Setelah Prefreezing	PTM
0,5 %	52,50±10,40	35,00±5,77	27,50±2,89
1,0%	53,75±7,50	36,25±2,50	28,75±4,79
1,5 %	53,75±7,50	37,50±6,45	31,25±2,50
2,0%	58,75±7,50	37,50±6,45	32,50±2,89
2,5 %	58,75±2,50	41,25±4,79	35,00±4,08
3,0%	61,25±2,50	43,75±2,50	37,50±2,89

Pada tahap ekuilibrisasi spermatozoa dapat mempertahankan motilitas 52—61% dan hasil ini masih cukup baik sesuai dengan pendapat Toelihere (1993) yang menyatakan bahwa kebanyakan pejantan fertil mempunyai 50—80% spermatozoa motil aktif progresif. Apabila dibandingkan dengan motilitas semen segar, pada tahap ekuilibrisasi terjadi penurunan motilitas. Penurunan motilitas setelah ekuilibrisasi ini diduga disebabkan oleh penumpukan asam laktat yang tinggi sebagai hasil akhir metabolisme sel (Sinha et al, 1992). Proses ekuilibrisasi merupakan tahap dimana spermatozoa beradaptasi dengan perubahan kondisi lingkungan yang dingin selama 4 jam pada suhu 5°C. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Sugiarti et al (2004) bahwa proses pendinginan pada suhu 5°C akan menyebabkan penurunan motilitas spermatozoa akibat adanya asam laktat sisa metabolisme sel yang menyebabkan kondisi medium menjadi semakin asam karena penurunan pH.

Hasil analisis ragam terhadap motilitas sapi Ongole setelah prefreezing menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata (P>0,05). Pada proses prefreezing terjadi penurunan suhu yang sangat rendah -140°C sehingga spermatozoa mengalami *cold shock* dan menyebabkan terjadinya kerusakan sel spermatozoa. Hal ini sesuai dengan pendapat Morel (1999) bahwa *cold shock* tersebut akan merubah membran spermatozoa dari konfigurasi normal ke konfigurasi heksagonal yang dapat menyebabkan kerusakan pada membran plasma spermatozoa.

Hasil analisis ragam terhadap motilitas sapi Ongole setelah PTM menunjukkan hasil

yang berbeda sangat nyata (P<0,01). Penambahan dosis rafinosa 3% pada PTM berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa sebesar 37,50% dan hasil ini lebih tinggi dibandingkan penambahan dosis rafinosa 0,5%; 1%; 1,5%; 2% dan 2,5% dengan motilitas 27,50%; 28,75%; 31,25%; 32,50% dan 35,00%. Uji polinomial ortogonal menunjukkan bahwa pengaruh perlakuan terhadap motilitas spermatozoa hidup berpola linier dengan persamaan regresi $\bar{y} = 25,08+4x$ dan memiliki koefisien korelasi (r) sebesar 75% serta koefisien determinasi (R²) sebesar 56%. Nilai r menunjukkan bahwa antara motilitas dengan dosis rafinosa memiliki hubungan sebesar 75%, sedangkan nilai R² menunjukkan pada dosis rafinosa yang bervariasi memberikan pengaruh sebesar 56% terhadap motilitas PTM dan sisanya oleh faktor diluar perlakuan. Berdasarkan uji Polinomial Ortogonal dosis rafinosa memiliki hubungan terhadap motilitas spermatozoa yang dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hubungan antara dosis rafinosa dengan persentase motilitas spermatozoa post thawing motility

Berdasarkan hasil uji lanjut polinomial ortogonal dapat dilihat dari koefisien korelasi dan koefisien determinasi penambahan dosis rafinosa berpengaruh terhadap persentase motilitas spermatozoa post thawing motility. Dosis rafinosa dapat digunakan oleh spermatozoa sebagai sumber energi dan krioprotektan ekstraseluler sehingga dapat melindungi spermatozoa selama proses freezing berlangsung.

Semakin tinggi penambahan dosis rafinosa yang diberikan dalam pengencer susu skim maka semakin tinggi persentase motilitas PTM akan semakin tinggi, hal ini diduga karena rafinosa sebagai sumber gula mampu melindungi spermatozoa dari kerusakan selama

pendinginan. Penambahan gugus gula berupa rafinosa berfungsi sebagai sumber energi dan krioprotektan yang melindungi spermatozoa dari kerusakan saat kriopreservasi. Menurut Rizal et al (2006), adanya perbaikan kualitas semen beku dengan penambahan berbagai jenis gula seperti rafinosa di dalam pengencer menjadi indikator bahwa gula-gula tersebut efektif melindungi spermatozoa dari kerusakan selama proses kriopreservasi semen.

Gula yang ditambahkan dalam pengencer berfungsi sebagai substrat sumber energi dan sekaligus sebagai krioprotektan ekstraseluler. Sebagai substrat sumber energi, gula tersebut akan dimetabolisir melalui jalur glikolisis atau dilanjutkan dengan reaksi asam trikarboksilat (siklus Krebs), sehingga dihasilkan energi berupa ATP yang akan dimanfaatkan oleh spermatozoa dalam pergerakan (motilitas). Gula yang berperan sebagai krioprotektan ekstraseluler akan melindungi membran plasma sel spermatozoa dari kerusakan secara mekanik yang terjadi saat proses kriopreservasi semen. Menurut Salmon dan Maxwell (2000), gula dalam keadaan beku berbentuk seperti kaca (glass) yang tidak tajam, sehingga tidak merusak sel spermatozoa secara mekanik.

2. Penilaian persentase spermatozoa hidup selama pembekuan

Data hasil rataan spermatozoa hidup sapi Ongole terhadap dosis rafinosa berbeda dalam pengencer susu skim dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil rataan persentase spermatozoa hidup sapi Ongole

Rafinosa	Penilaian		
	Setelah Ekuilibrasi	Setelah Prefreezing	PTM
	-----%-----		
0,5%	63,23±7,23	36,58±1,83	27,13±3,20
1,0%	65,78±3,24	36,75±3,63	29,60±5,73
1,5%	65,80±4,63	38,78±11,3	29,75±2,41
	9		
2,0%	66,78±8,26	39,65±3,29	29,48±4,84
2,5%	68,95±1,05	42,08±3,65	37,00±7,05
3,0%	71,93±11,9	45,68±2,46	42,93±2,59
	5		

Hasil analisis ragam terhadap persentase spermatozoa hidup pada tahap pemeriksaan setelah ekuilibrasi dan setelah prefreezing menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata (P>0,01). Pada proses ekuilibrasi semen beradaptasi dengan kondisi lingkungan yang rendah pada suhu sampai dengan 5°C selama 4 jam.

Proses pendinginan 5°C menyebabkan penurunan motilitas spermatozoa akibat adanya asam laktat sisa metabolisme sel yang menyebabkan kondisi medium menjadi semakin asam karena penurunan pH dan kondisi ini dapat bersifat racun terhadap spermatozoa, serta merusak membran plasma yang akhirnya menyebabkan kematian spermatozoa.

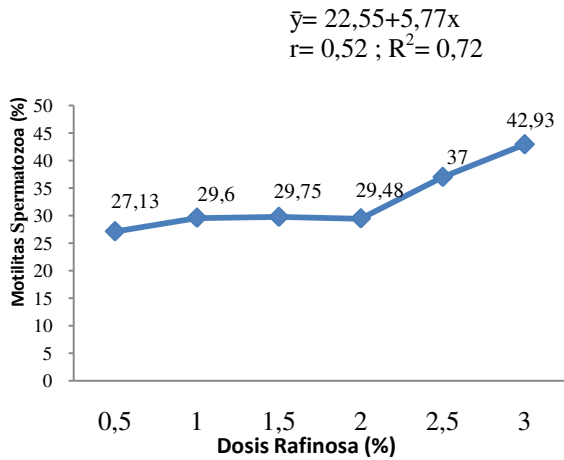
Hasil penelitian menunjukkan pada rataan setelah prefreezing terdapat hasil yang sama yaitu tidak berbeda nyata (P>0,01). Penambahan dosis rafinosa tidak memberikan pengaruh selama proses prefreezing berlangsung, diduga disebabkan karena rafinosa merupakan karbohidrat dengan molekul yang besar dan apabila termetabolisme dengan sempurna akan menghasilkan energi yang lebih banyak.

Tingginya energi yang dihasilkan menyebabkan suasana yang tidak nyaman untuk spermatozoa dan dapat bersifat toksik. Hal ini sesuai dengan pernyataan Mukminat (2014) bahwa penambahan sukrosa 2% menghasilkan energi dua kali lebih besar dari glukosa dan fruktosa, pemberian sukrosa juga tidak berpengaruh nyata dalam mempertahankan hidup spermatozoa, hal ini disebabkan karena dalam menghasilkan energi sukrosa akan menghasilkan asam laktat yang lebih banyak sehingga bersifat toksik dan menyebabkan kematian spermatozoa.

Hasil analisis ragam spermatozoa hidup terhadap dosis rafinosa pada post thawing motility (PTM) menunjukkan hasil yang berbeda sangat nyata (P<0,01). Rataan persentase spermatozoa hidup berada pada kisaran 27—42%. Dosis rafinosa memiliki hubungan terhadap spermatozoa hidup setelah thawing yang digambarkan dengan grafik pada Gambar 2.

Penambahan dosis rafinosa 3% memberikan pengaruh terhadap persentase spermatozoa hidup sebesar 42,93%, hasil ini lebih tinggi dibandingkan penambahan rafinosa sebanyak 0,5%; 1%; 1,5%; 2% dan 2,5% dengan persentase spermatozoa hidup 27,13%; 29,69%; 29,75%; 29,48% dan 37,00%. Uji polinomial ortogonal menunjukkan bahwa pengaruh perlakuan terhadap motilitas spermatozoa hidup berpola linier dengan persamaan regresi $\bar{y} = 22,55 + 5,77x$ dan memiliki koefisien korelasi (r) sebesar 52% serta koefisien determinasi (R²) sebesar 72%. Nilai r menunjukkan bahwa antara spermatozoa hidup dengan dosis rafinosa memiliki hubungan sebesar 52%, sedangkan nilai R² menunjukkan pada dosis rafinosa yang

bervariasi memberikan pengaruh sebesar 72% terhadap spermatozoa hidup PTM dan sisanya oleh faktor diluar perlakuan.



Gambar 2. Hubungan antara dosis rafinosa dengan persentase spermatozoa hidup post thawing motility

Berdasarkan hasil uji lanjut polinomial ortogonal dilihat dari koefisien korelasi dan koefisien determinasi penambahan dosis rafinosa berpengaruh terhadap spermatozoa hidup PTM. Semakin meningkatnya dosis rafinosa dalam pengencer susu skim membuat meningkatnya nilai spermatozoa hidup setelah thawing, diduga karena rafinosa efektif dalam melindungi spermatozoa dari kerusakan selama pembekuan.

Rafinosa yang ditambahkan di dalam pengencer susu skim mampu melindungi sel spermatozoa dari cekaman dingin (*cold shock*) pada suhu -196°C sehingga dampak kerusakan sel dapat dicegah. Menurut Rizal et al (2006), adanya perbaikan kualitas semen beku dengan penambahan berbagai jenis gula seperti rafinosa di dalam pengencer menjadi indikator bahwa gula-gula tersebut efektif melindungi spermatozoa dari kerusakan selama proses kriopreservasi semen. Selain berperan sebagai krioprotektan, gula juga dapat dimanfaatkan sebagai substrat sumber energi.

Sebagai substrat sumber energi, gula tersebut akan dimetabolisir melalui jalur glikolisis atau dilanjutkan dengan reaksi asam trikarboksilat (siklus Krebs), sehingga dihasilkan energi berupa ATP yang akan dimanfaatkan oleh spermatozoa dalam pergerakan (motilitas). Sebagai krioprotektan ekstraseluler, gula akan melindungi membran plasma sel spermatozoa dari kerusakan secara mekanik yang terjadi saat proses kriopreservasi semen. Menurut Salmon dan Maxwell (2000), gula dalam keadaan beku berbentuk seperti

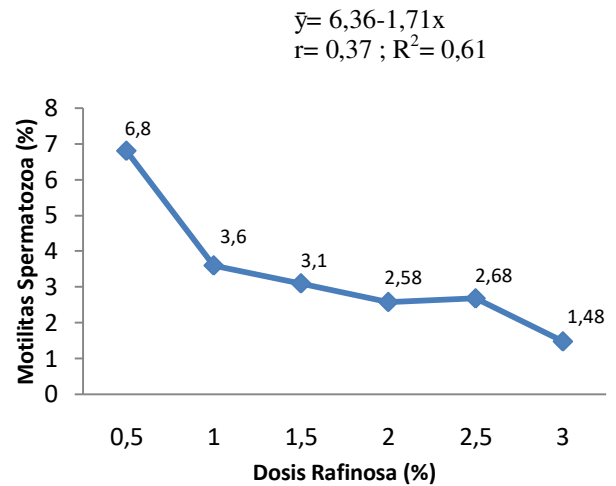
kaca (glass) yang tidak tajam, sehingga tidak merusak sel spermatozoa secara mekanik.

3. Penilaian persentase abnormalitas spermatozoa selama pembekuan

Kualitas spermatozoa dapat dilihat melalui pemeriksaan abnormalitas. Data rata-rata persentase sel spermatozoa hidup sapi Ongole terhadap dosis rafinosa dalam pengencer susu skim disajikan pada Tabel 4. Hasil analisis ragam abnormalitas spermatozoa terhadap dosis rafinosa setelah ekuilibrisasi menunjukkan hasil yang berbeda sangat nyata ($P < 0,01$). Rataan persentase abnormalitas spermatozoa berada pada kisaran 1—6%. Dosis rafinosa memiliki hubungan terhadap abnormalitas spermatozoa setelah ekuilibrisasi yang digambarkan dengan grafik pada Gambar 3.

Tabel 4. Hasil rata-rata persentase abnormalitas spermatozoa sapi Ongole

Rafinosa	Penilaian		
	Setelah Ekuilibrisasi	Setelah Prefreezing	PTM
0,5%	6,80±2,89	3,75±1,73	1,58±0,35
1,0%	3,60±2,74	2,48±1,58	0,40±0,46
1,5%	3,10±0,80	1,95±1,83	1,35±1,40
2,0%	2,58±2,09	3,15±2,52	2,03±1,63
2,5%	2,68±1,14	2,00±1,13	2,00±0,61
3,0%	1,48±1,09	1,45±0,25	1,30±0,87



Gambar 3. Hubungan antara dosis rafinosa dengan abnormalitas spermatozoa setelah ekuilibrisasi

Uji polinomial ortogonal menunjukkan bahwa pengaruh perlakuan terhadap motilitas spermatozoa hidup berpola linier dengan persamaan regresi $\hat{y} = 6,36 - 1,71x$ dan memiliki koefisien korelasi (r) sebesar 37% serta koefisien determinasi (R^2) sebesar 61%. Nilai r menunjukkan bahwa antara spermatozoa

hidup dengan dosis rafinosa memiliki hubungan sebesar 37%, sedangkan nilai R² menunjukkan pada dosis rafinosa yang bervariasi memberikan pengaruh sebesar 61% terhadap abnormalitas spermatozoa setelah ekuilibrisasi dan sisanya oleh faktor diluar perlakuan.

Terdapat pengaruh yang sangat nyata ($P < 0,01$) dari penambahan dosis rafinosa dalam pengencer susu skim terhadap abnormalitas spermatozoa setelah ekuilibrisasi. Pada dosis 0,5% didapatkan nilai abnormalitas yang tinggi yaitu 6,80% dan rata-rata pada dosis 1%; 1,5%; 2%; 2,5% dan 3% mengalami penurunan dengan nilai 3,60%; 3,10%; 2,58%; 2,68% dan 1,48%. Hasil rata-rata abnormalitas pada taraf yang berbeda ini masih dalam nilai yang normal dan dapat di proses menjadi semen beku, hal ini sesuai dengan pernyataan Toelihere (1993) selama abnormalitas spermatozoa belum mencapai 20% dari contoh semen, maka semen tersebut masih dapat dipakai untuk inseminasi.

Pengencer susu skim berfungsi sebagai pengatur tekanan osmotik dan juga berfungsi menetralkan asam laktat yang dihasilkan dari sisa metabolisme. Efek pendinginan yang terlalu cepat maupun lambat dapat dikurangi, sehingga kelainan morfologi spermatozoa lebih rendah (Salmon dan Maxwell, 2000). Terjadinya abnormalitas merupakan akibat dari perubahan media hidupnya serta suhu dimana pada proses ekuilibrisasi terjadi pembentukan kristal-kristal es. Pada proses tersebut dapat menyebabkan perubahan struktur dari spermatozoa seperti bentuk ekor yang melingkar, ekor putus, atau kepala putus. Abnormalitas spermatozoa yang didapatkan dalam penelitian ini adalah kepala putus, ekor putus, kepala cabang, ekor cabang, ekor melingkar, kepala pecah, kepala kecil dan kepala besar.

Hasil penelitian menunjukkan nilai abnormalitas spermatozoa pada rata-rata setelah preefreezing dan freezing terdapat hasil yang sama yaitu tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Kondisi tersebut menunjukkan bahwa dosis rafinosa dalam pengencer susu skim tidak memberikan pengaruh selama proses preefreezing dan freezing berlangsung. Hal tersebut diduga karena kerusakan membran plasma yang terjadi akibat cold shock dan perubahan tekanan osmotik yang mengakibatkan perubahan bentuk fisik spermatozoa. Siswanto dalam Setiono (2015) menyatakan bahwa tekanan osmotik ditandai dengan adanya peningkatan kejadian spermatozoa dengan ekor melingkar,

menurunkan viabilitas, dan menurunkan integritas membran plasma spermatozoa.

Rafinosa yang merupakan trisakarida belum terhidrolisis sempurna untuk menghasilkan energi karena harus terpecah terlebih dahulu menjadi fruktosa, glukosa, dan galaktosa. Menurut Krystalia (2013), rafinosa adalah suatu trisakarida yang penting, terdiri atas tiga molekul monosakarida yang berikatan, yaitu fruktosa-glukosa-galaktosa. Setelah dihidrolisis sempurna, gugus gula yang pertama digunakan oleh spermatozoa adalah fruktosa. Fruktosa dalam sel difosforilasi oleh heksokinase atau fruktokinase yang akhirnya menjadi fruktosa 1 fosfat. Lalu akan dipecah menjadi DHAP (dihidroksiasetonfosfat) dan Gliseraldehid oleh aldolase B. DHAP dapat secara langsung masuk ke glikolisis dan glukoneogenesis di dalam sel. Pembentukan sorbitol berubah menjadi fruktosa di dalam sel sperma oleh enzim sorbitol dehidrogenase dan inilah sumber energi sperma.

Sorbitol tidak seperti glukosa, sorbitol tidak bisa melewati membran sel akibatnya sorbitol terjebak didalam sel. Ketika sorbitol dehidrogenasenya rendah sorbitol akan menumpuk didalam sel. Ini menyebabkan efek osmotik meningkat, sorbitol menarik air sehingga terjadi pembengkakan dan menyebabkan kematian spermatozoa. Pembengkakan membran plasma hanya menyebabkan kematian pada spermatozoa tetapi sebagian besar spermatozoa yang mati masih memiliki bentuk yang normal (Krystalia, 2013).

Nilai abnormalitas pada rata-rata setelah preefreezing memiliki nilai tertinggi 3,75% pada dosis 0,5% dan nilai terendah 1,45% pada dosis 3%. Pada proses freezing nilai rata-rata abnormalitas terendah terdapat pada dosis 1% sebesar 0,40% dan tertinggi pada dosis 2% dengan nilai 2,03%. Persentase abnormalitas tersebut masih baik untuk melakukan inseminasi buatan. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Toelihere (1993) yang menyatakan bahwa selama abnormalitas spermatozoa belum mencapai 20% dari contoh semen, maka semen tersebut masih dapat dipakai untuk inseminasi.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini maka dapat disimpulkan bahwa penambahan dosis rafinosa dalam pengencer susu skim berpengaruh terhadap persentase motilitas spermatozoa PTM, persentase spermatozoa

hidup PTM dan persentase abnormalitas spermatozoa setelah ekuilibrasi

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap pemberian dosis rafinosa lebih dari 3% dalam pengencer susu skim tanpa penambahan gugus gula lain terhadap persentase motilitas, persentase spermatozoa hidup dan abnormalitas spermatozoa.

DAFTAR PUSTAKA

- Burhan, B., 2003. Panduan Praktis Memilih Produk Daging Sapi. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Feradis. 2010. Bioteknologi Reproduksi pada Ternak. Alfabeta. Bandung
- Hafez, E. S. E. 2000. Semen Evaluation in Reproduction In Farm Animals. 7th edition. Lippincott Williams and Wilkins. Maryland, USA
- Krystalia, C. 2013. Metabolisme Fruktosa dan Galaktosa. <http://cindy.krystalia.co.id/2013/05/biokimia.html>. Diakses pada 9 Juni 2016
- Mukminat, A. 2014. Pengaruh Penambahan Berbagai Sumber Karbohidrat Pada Pengencer Skim Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Bali. Skripsi. Universitas Lampung. Bandar Lampung
- Morel DMCG. 1999. Equine Artificial Insemination. Wallingford. Cabi Publish
- Mumu, M. I. 2009. Viabilitas Semen Sapi Simmental yang Dibekukan Menggunakan Krioprotektal Gliserol. Skripsi. Universitas Tadulako. Palu
- Nalbandov, A.V. 1990 Fisiologi Reproduksi pada Mamalia dan Unggas. UI Press. Jakarta
- Rizal, M.A., Herdis, B. Arief, S.A. Achmad, dan Yulnawati. 2006. Peranan beberapa jenis gula dalam meningkatkan kualitas semen beku domba Garut. Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner. Puslitbang Peternakan. Balitbang Pertanian Departemen Pertanian. 11(2):123-130.
- Salisbury G. W. dan N. L. Van Denmark. 1985. Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi. Diterjemahkan oleh R. Djanuar. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta
- Salmah, Nur., 2014. Motilitas, Persentase Spermatozoa Hidup dan Abnormalitas Spermatozoa Semen Beku Sapi Bali Pada Pengencer Andromed dan Tris Kuning Telur. Skripsi. Universitas Hassanudin. Makassar
- Salmon, S. And W.M.C. Maxwell. 2000. Frozen storage of ram semen processing, freezing, thawing, and fertility after cervical insemination. Anim. Reprod. Sci. 37: 185-249.
- Savitri, O.A., Tuty.Y.Laswardi, D.Sajuthi, dan R.A.Iis. 2014. Kualitas semen kambing peranakan etawa dalam modifikasi pengencer tris dengan trehalosa dan rafinosa. Jurnal Veteriner. Vol 15(1) : 11—22
- Setiono, N. 2015. Kualitas Semen Beku Sapi Brahman dengan Dosis Krioprotektan Gliserol yang Berbeda dalam Bahan Pengencer Tris Sitrat Kuning Telur. Skripsi. Universitas Lampung. Bandar Lampung
- Sinha, S., B.C. Deka, M.K. Tamulu, dan B.N. Borgohain. 1992. Effect of equilibration period and glicerol level in tris extender of quality of frozen goat semen. Indian Vet. J. Vol 69: 1107—1110
- Steel, R. G. D. dan J. H. Torrie., 1993. Prinsip dan Prosedur Statistika (Pendekatan Biometrik) Penerjemah B. Sumantri. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta
- Sugiarti, T., E. Triwlaningsih, P. Situmorang, R.G. Sianturi dan D.A.Kusumaningrum. 2004. Penggunaan katalase dalam produksi semen dingin sapi. Pros. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor, 4 – 5 Agustus 2004. Puslitbang Peternakan. Bogor. hlm. 215 – 220
- Toelihere. 1985. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Angkasa. Bandung
- _____. 1993. Inseminasi Buatan pada Ternak. Bandung: Angkasa