

PENGARUH WAKTU EKUILIBRASI TERHADAP KUALITAS SEMEN KERBAU LUMPUR (*Bubalus bubalis*) SETELAH THAWING

*The Influence of Time Equilibration to The Quality of The Swamp Buffalo (*Bubalus bubalis*) Cement After Thawing*

Gian Dina Febriani¹, Hamdan², dan Juli Melia²

¹Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Laboratorium Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

E-mail: nadineiskandar.11@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh waktu ekuilibrasi terhadap kualitas semen kerbau lumpur (*Bubalus bubalis*) sesudah thawing meliputi motilitas dan persentasi hidup spermatozoa. Penelitian ini menggunakan semen segar dari seekor kerbau lumpur dengan umur 4 tahun yang dikoleksi menggunakan vagina buatan dan dievaluasi secara makroskopis dan mikroskopis untuk melihat layak atau tidaknya semen untuk dibekukan. Semen dengan kualitas yang baik kemudian diencerkan dengan menambahkan Andromed®, lalu dilakukan *filling dan sealing straw* kemudian diekuilibrasi menjadi 3 kelompok perlakuan. Kelompok I (KI, n=3 straw) dengan waktu ekuilibrasi 3 jam, Kelompok II (KII, n=3 straw) dengan waktu ekuilibrasi 5 jam, dan Kelompok III (KIII, n=3 straw) dengan waktu ekuilibrasi 7 jam. Setelah diekuilibrasi, dilakukan proses pembekuan dan disimpan dalam N₂ cair (sesuai dengan prosedur di Balai Inseminasi Buatan Daerah Tanah Sakato). Setelah dibekukan kemudian dilakukan thawing dan dievaluasi motilitas serta persentasi hidup spermatozoa. Motilitas spermatozoa pada KI; KII; dan KIII masing-masing adalah 14,55±1,58; 44,15±1,70; dan 15,38±1,58, sedangkan persentase hidup spermatozoa masing-masing adalah 37,38±1,42; 46,50±1,36; dan 37,50±1,25. Hasil penelitian menunjukkan bahwa lamanya waktu ekuilibrasi pada berpengaruh nyata (P<0,05) terhadap motilitas dan persentasi hidup spermatozoa kerbau lumpur dan waktu ekuilibrasi terbaik pada semen kerbau lumpur setelah thawing adalah 5 jam.

Kata kunci: ekuilibrasi, kerbau lumpur, thawing

ABSTRACT

This research aims to know the influence of the equilibration to the quality of the swamp buffalo (*Bubalus bubalis*) cement after thawing including: motility, and percentage of live spermatozoa. This research used the fresh cement from a 4 years old water buffalo was collected using an artificial vagina, and evaluation cement for macroscopic and microscopic to see if cement was worthy or not worthy to frozen. Good quality cement was diluted by adding Andromed, then semen were incorporated into the straw using the machine filling sealing followed by equilibrated with 3 treatment groups. Group I (n = 3 straw) with equilibration time of 3 hours, the Group II (n = 3 straw) with a time of equilibration was 5 hours, and group III (n = 3 straw) with equilibration a time of 7 hours. After equilibrated, straw frozen and stored in liquid N₂ (BIBD Tanah Sakato procedures). The results show that the length of time the real equilibration effect (P < 0.05) on the motility and percentage life of swamp buffalo spermatozoa. Equilibration 5 hours of time differs markedly with equilibration time 3 and 7 hours, motility, and percentage of live spermatozoa (44.15±1.70; 46.50±1.36 vs 14.55±1.58; 1.42±37.38 vs. 15.37±1.58; and 37.50±1.25). In conclusion, equilibration time is showed on the cement of swmp buffalo after 5 hours thawing.

Key words: equilibration, swamp buffalo, thawing

PENDAHULUAN

Kerbau adalah salah satu ternak besar penghasil daging yang banyak dikembangkan di Indonesia. Dalam rangka memenuhi kebutuhan daging di Indonesia dan untuk mengurangi ketergantungan terhadap daging impor, ternak kerbau dimasukkan ke dalam program swasembada daging tahun 2014 yang dikenal dengan nama Program Swasembada Daging Sapi dan Kerbau 2014. Namun jika dilihat dari perkembangan ternak kerbau dari tahun ke tahun terjadi penurunan populasi kerbau. Selama tujuh belas tahun terakhir ini populasi ternak kerbau mengalami penurunan, yaitu dari 3.291.345 ekor pada tahun 1992 menjadi 2.191.636 ekor pada tahun 2008. Hal ini menunjukkan bahwa ternak kerbau di Indonesia mengalami penurunan setiap tahunnya (Subianto, 2010). Ada beberapa kendala dalam meningkatkan populasi ternak kerbau, diantaranya faktor reproduksi, terutama faktor induk dan faktor pejantan. Faktor induk ini dapat berupa berahi tenang (*silent heat*), lama masa kebuntingan, panjang jarak antara kelahiran (*calving*

interval), dan tingkat kematian yang cukup tinggi pada anak kerbau sedangkan faktor pejantan yaitu kurang tersedia pejantan unggul yang mampu menghasilkan bibit unggul.

Kurang berkembangnya inseminasi buatan pada kerbau salah satunya disebabkan oleh kurang tersedianya semen beku dari pejantan unggul. Untuk meningkatkan populasi ternak kerbau, perlu didekati dengan teknologi bidang reproduksi. Inseminasi buatan (IB) adalah salah satu alternatif yang tepat, karena lebih sederhana dan lebih aplikatif (Amin *et al.*, 1999). Salah satu penyebab rendahnya angka kebuntingan hasil IB pada kerbau diduga karena rendahnya mutu semen beku kerbau tersebut. Hal ini disebabkan karena spermatozoa kerbau lebih mudah rusak dibandingkan spermatozoa sapi pada saat pembekuan (Goyal *et al.*, 1996). Pada proses pembekuan semen, masalah yang sering timbul pada umumnya disebabkan oleh kejutan dingin (*cold shock*) terhadap sel yang dibekukan dan pembentukan kristal-kristal es. Salah satu usaha untuk mengatasi hal tersebut adalah dengan mencari waktu ekuilibrasi yang optimal sehingga mengurangi

spermatozoa yang rusak selama proses pembekuan (Supriatna dan Pasaribu, 1992).

Menurut Toelihere (1981), waktu ekuilibrasi adalah periode yang diperlukan spermatozoa untuk menyesuaikan diri dengan pengencer, sehingga pada waktu pembekuan, kematian spermatozoa yang berlebihan dapat dihindari. Waktu ekuilibrasi dapat diberikan selama beberapa jam dalam suhu rendah dan dilaksanakan segera setelah semen diencerkan dengan pengencer. Toelihere (1985) berpendapat bahwa untuk mendapatkan fertilitas yang tinggi maka spermatozoa harus dipreservasi atau diawetkan untuk beberapa lama sesudah penampungan dan dicampur dengan bahan pengencer. Suhu optimum untuk penyimpanan semen encer adalah 5° C atau lebih rendah lagi tergantung pada peningkatan pendinginan, sedangkan suhu di atas 5° C dapat menghambat aktivitas metabolisme dan motilitas spermatozoa.

Penelitian integritas semen pada kerbau lumpur telah dilakukan dengan melihat persentase tudung akrosom utuh dan membran plasma utuh untuk ekuilibrasi selama 2, 4, dan 6 jam pada berbagai metode pembekuan semen oleh Herdis *et al.* (1999). Integritas terbaik dicapai pada pemberian gliserol dua tahap dengan ekuilibrasi 4 jam. Proses pembekuan semen dimulai setelah ekuilibrasi. Waktu ekuilibrasi merupakan suatu tahap awal proses penurunan suhu bertingkat spermatozoa untuk mencegah *cold shock* sampai semen dimasukkan dalam kontainer nitrogen cair. Berdasarkan asumsi-asumsi di atas diperlukan suatu penelitian yang bertujuan mengetahui dampak waktu ekuilibrasi terhadap kualitas semen kerbau lumpur (*Bubalus bubalis*) setelah *thawing* untuk menghasilkan kualitas semen beku yang baik.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental dengan menggunakan sampel semen segar kerbau lumpur (*Bubalus bubalis*). Rancangan yang digunakan pada penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL). Kelompok I (KI) adalah pembekuan semen dengan waktu ekuilibrasi 3 jam, Kelompok II (KII) adalah pembekuan semen dengan waktu ekuilibrasi selama 5 jam, dan Kelompok III (KIII) adalah pembekuan semen dengan waktu ekuilibrasi selama 7 jam. Masing-masing kelompok perlakuan diulangi sebanyak 4 kali.

Prosedur Kerja

Semen dikoleksi menggunakan vagina buatan kemudian dievaluasi secara makroskopis dan mikroskopis, lalu dibuat pengenceran sesuai dengan data yang didapat sewaktu evaluasi. Setelah pengenceran, semen dikemas ke dalam *straw* menggunakan mesin *filling* dan *sealing* yang bekerja secara otomatis. Sebelum *straw* diekuilibrasi di dalam *cold tube* dengan suhu 3-5° C *straw* dibagi menjadi tiga kelompok perlakuan (3, 5, dan 7 jam) baru kemudian *straw* dimasukkan ke dalam *cold tube*. Setelah

diekuilibrasi dimulailah pembekuan namun sebelum *straw* disimpan di dalam N₂ cair *straw* dibekukan terlebih dahulu di atas uap N₂ cair (2-3 cm) dengan cara *straw* dimasukkan ke dalam kotak *stereofom* yg berisi N₂ cair selama 14 menit. Setelah dibekukan di atas uap N₂ cair *straw* disimpan di dalam kontainer baru kemudian dilakukan *thawing* dan dilakukan evaluasi untuk melihat motilitas dan persentase hidup spermatozoa.

Analisis Data

Data hasil penelitian motilitas spermatozoa dan persentase kualitas spermatozoa yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis varian satu arah.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Motilitas spermatozoa setelah *thawing* dengan waktu ekuilibrasi 3, 5, dan 7 jam disajikan pada Tabel 1. Berdasarkan dari hasil analisis data, ditemukan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) antara ketiga waktu ekuilibrasi semen kerbau terhadap motilitas spermatozoa. Motilitas spermatozoa semen kerbau pada KI ($14,55 \pm 1,58$) berbeda nyata dengan motilitas spermatozoa semen kerbau pada KII ($44,15 \pm 1,70$), namun motilitas spermatozoa semen kerbau KI ($14,55 \pm 1,58$) tidak berbeda nyata dengan motilitas spermatozoa semen kerbau KIII ($15,37 \pm 1,58$). Berdasarkan dari hasil penelitian ini motilitas spermatozoa semen kerbau terbaik adalah pada waktu ekuilibrasi 5 jam ($44,15 \pm 1,70$). Hasil penelitian ini hampir sama dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Tuli *et al.* (1981) dan Herdis *et al.* (1999) yang mendapatkan waktu ekuilibrasi 4 jam menghasilkan motilitas spermatozoa kerbau terbaik dibandingkan dengan waktu 2 dan 6 jam. Namun sebaliknya Rao *et al.* (1990), Dhami dan Kodagali (1990), Haranat *et al.* (1990), dan Shiddique *et al.* (2006) menganjurkan waktu ekuilibrasi 6 jam untuk spermatozoa kerbau.

Tabel 1. Motilitas spermatozoa setelah *thawing*

Koleksi semen	Waktu ekuilibrasi		
	KI (3 jam)	KII (5 jam)	KIII (7 jam)
I	15,00	41,60	13,30
II	13,30	45,00	16,60
III	13,30	45,00	15,00
IV	16,60	45,00	16,60
Jumlah	58,20	176,60	61,50
Rata-rata	$14,55 \pm 1,58^a$	$44,15 \pm 1,70^b$	$15,38 \pm 1,58^a$

^a ^bSuperskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

Waktu ekuilibrasi merupakan waktu penyesuaian diri spermatozoa dengan pengencer supaya pada waktu pembekuan tidak terjadi kerusakan spermatozoa yang berlebihan. Perbedaan waktu ekuilibrasi menyebabkan perbedaan motilitas spermatozoa setelah pembekuan. Pada waktu ekuilibrasi optimum akan dicapai motilitas spermatozoa tertinggi, karena ekuilibrasi yang optimum akan memberikan kesempatan terbaik bagi gliserol

untuk melindungi spermatozoa dari pengaruh *cold shock* selama proses pembekuan. Gliserol menembus ke dalam sel spermatozoa untuk membentuk konsentrasi intraseluler dan ekstraseluler yang seimbang. Pada ekuilibrasi tidak hanya terjadi keseimbangan konsentrasi gliserol, tetapi komponen ekstender osmotik aktif lainnya (Salamon dan Maxwell, 2000).

Motilitas tertinggi pada KII karena waktu optimal yang dibutuhkan spermatozoa untuk menyesuaikan diri dengan pengencer adalah pada waktu 5 jam. Pada tahap ini gliserol menembus ke dalam sel spermatozoa untuk membentuk konsentrasi intra dan ekstraseluler yang seimbang (Salamon dan Maxwell, 2000). Pada KI diduga belum terjadi keseimbangan larutan ekstraseluler dan intraseluler, gliserol belum sepenuhnya masuk ke dalam sel, sehingga pada waktu pembekuan terjadi kerusakan spermatozoa. Pada waktu KIII, motilitas yang rendah diduga karena munculnya sifat toksik dari gliserol, pengaruh terlalu lamanya kontak spermatozoa dengan gliserol, sifat toksik gliserol ini merusak struktur membran plasma dan organel-organel sel sehingga menyebabkan terhambatnya metabolisme energi, tidak adanya suplai energi akan menyebabkan spermatozoa tidak bisa bergerak dan bahkan mati. Di samping adanya pengaruh ekuilibrasi, semen kerbau mempunyai faktor antimotilitas. Bila semen kerbau dibekukan maka faktor ini akan dilepas sehingga menurunkan motilitas spermatozoa kerbau *post thawing*. Mekanisme kerja faktor ini belum diketahui secara pasti, akan tetapi diduga merupakan *non protein nitrogen* (NPN) yang berpotensi untuk berubah menjadi amoniak. Perubahan tersebut akan mengganggu proses metabolisme, motilitas dan membunuh spermatozoa (Gazali dan Tambing, 2002).

Hasil pengamatan persentase hidup spermatozoa setelah *thawing* untuk masing-masing perlakuan disajikan pada Tabel 2. Persentase sperma hidup lebih tinggi daripada persentase sperma motil (Bearden dan Fuquay, 1997) karena sperma yang hidup belum tentu motil, tetapi sejumlah sperma yang tidak motil terkadang masih hidup (Campbell *et al.*, 2003).

Tabel 2. Persentase hidup spermatozoa setelah *thawing*

Koleksi semen	Waktu ekuilibrasi		
	KI (3 jam)	KII (5 jam)	KIII (7 jam)
I	39,30	45,00	36,00
II	37,60	47,80	37,20
III	36,30	45,70	37,80
IV	36,30	47,50	39,00
Jumlah	149,50	186,00	150,00
Rata-rata	37,38±1,42 ^a	46,50±1,36 ^b	37,50±1,25 ^a

^a, ^bSuperskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

Lamanya waktu ekuilibrasi menunjukkan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) terhadap persentase hidup spermatozoa semen kerbau sesudah *thawing*. Pada KI persentase hidup spermatozoa semen kerbau ($37,38 \pm 1,42$) berbeda nyata dengan KII ($46,50 \pm 1,36$) dan tidak berbeda nyata dengan KIII ($37,50 \pm 1,25$).

Hasil penelitian ini hampir sama dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Tuli *et al.* (1981) dan Herdis *et al.* (1999) yang mendapatkan waktu ekuilibrasi 4 jam menghasilkan persentase hidup spermatozoa kerbau terbaik dibandingkan dengan waktu ekuilibrasi 2 dan 6 jam. Namun sebaliknya Rao *et al.* (1990), Dhami dan Kodagali (1990), Haranath *et al.* (1990), dan Shiddique *et al.* (2006) menganjurkan waktu ekuilibrasi 6 jam untuk spermatozoa kerbau.

Perbedaan waktu ekuilibrasi akan menyebabkan perbedaan persentase hidup spermatozoa setelah pembekuan. Dalam mempertahankan keadaan sel spermatozoa, gliserol membutuhkan waktu yang cukup untuk masuk ke dalam membran sel dan menjaga organel-organel sel dari kerusakan akibat pembekuan spermatozoa. Pada ekuilibrasi 5 jam gliserol dalam pengencer mampu bekerja secara optimal untuk menghambat pembentukan kristal es, sehingga menghambat terjadinya kematian spermatozoa. Gliserol yang berikatan dengan molekul air bebas membentuk kristal-kristal es yang kecil dan halus, sehingga tidak berbahaya bagi sel spermatozoa. Kerusakan membran dan organel-organel dapat dihindari, sehingga fungsi tiap organel berjalan normal. Di samping itu, waktu ekuilibrasi 5 jam memberikan waktu yang cukup untuk terjadinya keseimbangan potensial kimiawi air intraseluler dan ekstraseluler. Pada waktu ekuilibrasi 3 dan 7 jam, tidak terjadi keseimbangan potensial kimiawi air intra dan ekstraseluler, sehingga pada waktu *thawing* akan terjadi kerusakan dinding sel dan akan menyebabkan terjadinya kematian spermatozoa.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa waktu ekuilibrasi berpengaruh terhadap kualitas spermatozoa kerbau lumpur (*Bubalus bubalis*) setelah *thawing*. Waktu ekuilibrasi terbaik diperoleh pada ekuilibrasi 5 jam.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan yang telah mendanai proyek penelitian ini melalui dana Penelitian Hibah Fundamental Tahun Anggaran 2009 dengan Kontrak No. 1491B.3/H14/HM/2009 tanggal 16 April 2009.

DAFTAR PUSTAKA

- Amin, M.R., M.R. Toelihere, L.Y. Tuty, and P. Situmorang. 1999. Effects of bovine seminal plasma on frozen semen quality of swamp buffaloes (*Bubalus bubalis*). *JITV*. 4(3):143-147.
- Bearden, H.J. and J. Fuquay. 1997. The Male Reproduction System. In *Applied Animals Reproduction*. 4th ed. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey.
- Champbell, J.R., K.L. Campbell, and M.D. Kenealy. 2003. Artificial Insemination. In *Animal Science*. 4th ed. Mc Graw-Hill, New York.
- Dhami, A.J. and S.B. Kodagali. 1990. Freezability, enzyme leakage and fertility of buffalo spermatozoa in relation to the quality

- of semen ejaculates and extenders. **Theriogenology**. 32(5):853-863.
- Dwiyanto K. dan Handi Wirawan, 2006. Strategi pengembangan ternak kerbau: Penjarangan dan distribusi. **Prosiding Lokakarya Nasional Usaha Ternak Kerbau Mendukung Program Kecukupan Daging Sapi 2006**. Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan, Bogor.
- Gazali, M. dan S.N. Tambing. 2002. Ulasan: Kriopreservasi sel spermatozoa. **J. Hayati**. 9(1):27-32.
- Goyal, R.L., R.K. Tuli, G.C., George, and D. Chand. 1996. Comparison of quality and freezability of water buffalo semen after washing or sephadex filtration. **Theriogenology** 46:679-686
- Harananth, G.B., T.B. Suryaprakasam, A.V.N. Rao, and G. Somasekharam, 1990. Freezability of semen and fertility of frozen semen packaged in mini and medium French straws: A note. **Recent Advances in Buffalo Research**. 3:87-88.
- Herdis, M.R. Toelihere., T.L. Yusuf dan I.K. Kusuma. 1999. Integritas spermatozoa kerbau lumpur (*Bubalus bubalis*) pada berbagai metode pembekuan semen. **JITV**. 4(1):7-12.
- Kumar, R. and R. Sing 2010. Buffalo production system in India. **Proceeding. 9th World Buffalo Congress**. Argentine, Buenos Aires:32-37.
- Rao, A.V.N., G.B. Haranath, and G. Somasekharam. 1990. Effect of equilibration and thawing rates on survival and acrosomal maintenance of buffalo spermatozoa in straws. **Recent Advances in Buffalo Research**. 3:20-24.
- Salamon, S. and W.M.C. Maxwell. 2000. Storage of ram semen. **Anim. Reprod. Sci.** 62:77-111.
- Siddique M., R. Ali, and A. Raza. 2006. Effect of buffer on freezing of buffalo bull semen. **J. Agricult. Soc. Sci.** 2(2):117-119.
- Subianto, M. 2010. **Populasi Kerbau Semakin Menurun: Menuju Swasembada Daging 2014**. Publikasi Budidaya Ternak Ruminansia, Jakarta.
- Supriatna, I. dan B. Pasaribu. 1992. **In vitro Fertilisasi, Transfer Embrio dan Pembekuan Embrio**. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Toelihere, M.R. 1981. **Inseminasi Buatan pada Ternak**. Edisi ke-1. Penerbit Angkasa, Bandung.
- Toelihere, M.R. 1985. **Fisiologi Reproduksi pada Ternak**. Penerbit Angkasa, Bandung.
- Tuli, R.K., M. Singh, and J.S. Matharoo. 1981. Fertility trial under field conditions with frozen buffalo bull semen using Tris yolk glycerol extender. **Indian J. Dairy Sci.** 34:456-458.