

## Pengaruh Media *Swim-up* terhadap Karakteristik Spermatozoa Epididimis Kerbau

(Effect of Media Against *Swim-up* Spermatozoa Characteristics Buffalo Epididymis)

Rini Elisia\* dan Maiyontoni

Program Studi Peternakan Sekolah Tinggi Ilmu Pertanian (STIPER) Sawahlunto Sijunjung  
Jl. H. Agus Salim No. 17, Muaro Sijunjung  
\*e-mail: [elisiarini@gmail.com](mailto:elisiarini@gmail.com)

### ABSTRACT

The objective of this study was to improve the best of *swim-up* media for buffalo epididymal spermatozoa used embryos produce by *in vitro* fertilization. Epididymal sperm collected from buffalo examined macroscopically and microscopically. Three media were used for the *swim-up* sperm: TALP, mBO and TCM-199. The results epididymis buffalo sperm motility percentage indicate that more influenced significantly ( $P < 0,05$ ) on all three *swim-up* media with TALP averaging  $74,17 \pm 7,35$ ; mB-O  $77,5 \pm 4,03$ ; TCM-199  $67,5 \pm 5,15$ . For buffalo epididymal spermatozoa percentage was also influential shows significant ( $P < 0,05$ ) on the three *swim-up* media with TALP averaging  $90,76 \pm 4,04$ ; mB-O  $91,86 \pm 4,63$ ; TCM-199  $80,73 \pm 9,6$ . While the percentage TAU of buffalo epididymal spermatozoa showed that no significant effect ( $P > 0,05$ ) in the three *swim-up* media with TALP averaging  $81,36 \pm 5,38$ ; medium BO  $80,22 \pm 6,35$ ; TCM-199  $79,62 \pm 7,69$ . From these results it can be concluded that the use of media medium BO is able to maintain the characteristics of buffalo epididymal spermatozoa *in vitro* better than the other two media.

Keywords : buffalo, epididymis, *in vitro*, *swim-up*, spermatozoa

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan media *swim-up* terbaik pada spermatozoa epididimis kerbau *in vitro*. Sperma yang dikoleksi dari epididimis kerbau diperiksa secara makroskopis dan mikroskopis. Dilakukan pengenceran sesuai dengan konsentrasi yang diinginkan sekitar 200 juta sperma/ml. Tiga media yang digunakan untuk *swim-up* sperma yakni : TALP, medium BO dan TCM-199. Hasil penelitian menunjukkan persentase motilitas spermatozoa epididimis kerbau berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap ketiga media *swim-up* dengan rata-rata TALP  $74,17 \pm 7,35$ ; medium BO  $77,5 \pm 4,03$ ; TCM-199  $67,5 \pm 5,15$ . Uji lanjut menunjukkan medium BO nyata lebih baik dari dua medium lainnya. Untuk persentase hidup spermatozoa epididimis kerbau juga menunjukkan pengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap ketiga media *swim-up* dengan rata-rata TALP  $90,76 \pm 4,04$ ; medium BO  $91,86 \pm 4,63$ ; TCM-199  $80,73 \pm 9,6$ , dengan medium BO dan TALP nyata lebih baik mempertahankan persentase hidup spermatozoa, sementara itu persentase tudung akrosom utuh (TAU) spermatozoa epididimis kerbau menunjukkan tidak berpengaruh nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap ketiga media *swim-up* dengan rata-rata TALP  $81,36 \pm 5,38$ ; medium BO  $80,22 \pm 6,35$ ; TCM-199  $79,62 \pm 7,69$ . Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa penggunaan media medium BO mampu mempertahankan karakteristik spermatozoa epididimis kerbau *in vitro* lebih baik dari dua media yang lain.

Kata kunci : kerbau, epididimis, *in vitro*, *swim-up*, spermatozoa

### PENDAHULUAN

Ternak kerbau (*Bubalus bubalis*) merupakan salah satu ternak ruminansia besar yang mempunyai potensi tinggi dalam

penyediaan daging sebagai sumber protein hewani. Namun perkembangan populasi kerbau tidak secepat ternak sapi, salah satu kendalanya adalah tingkat kelahiran yang masih rendah yang disebabkan kurang optimalnya reproduksi

ternak kerbau. Pemanfaatan teknologi reproduksi merupakan salah satu solusi dalam mengatasi hal tersebut. Ada beberapa teknologi reproduksi yang ditujukan untuk meningkatkan produktifitas ternak, antara lain Inseminasi Buatan (IB), Embrio Transfer (ET) dan *In Vitro Fertilization* (IVF) (Febiang *et al.*, 2018).

Inseminasi Buatan (IB) merupakan teknologi reproduksi ternak yang paling berhasil dan diterima secara luas oleh peternak karena biaya relatif murah dan terjangkau serta merupakan sarana yang efektif untuk menyebarkan bibit unggul. Inseminasi buatan dapat ditingkatkan nilainya dengan menghasilkan bibit unggul dengan jenis kelamin sesuai dengan tujuan pemeliharaan, misalnya untuk potong dibutuhkan jantan, sedangkan untuk bibit dibutuhkan betina. Teknologi yang dibutuhkan untuk pengaturan jenis kelamin anak disebut dengan *sexing* spermatozoa (Susilawati, 2014). Jenis kelamin ditentukan oleh adanya kromosom X dan Y pada spermatozoa pejantan (Garner dan Hafez, 2008).

Teknologi *Sexing* adalah proses pemisahan spermatozoa X dan Y, penerapan bioteknologi *sexing* spermatozoa merupakan salah satu alternatif yang diciptakan untuk dapat memprediksi jenis kelamin anak yang dilahirkan dan dapat disesuaikan dengan tujuan peternakan (Bhalakiya *et al.*, 2018). Penentuan jenis kelamin anak sebelum dilahirkan lebih menguntungkan dari segi ekonomis, karena selain dapat menekan biaya pemeliharaan juga dapat menunjang program *breeding* dalam pemilihan bibit unggul. Pemanfaatan teknologi *sexing* spermatozoa merupakan pilihan yang tepat untuk mendukung peran inseminasi buatan dalam rangka meningkatkan efisiensi usaha peternakan.

Salah satu metode *sexing* spermatozoa yang cukup sederhana dilakukan adalah metode *swim-up*. Pemisahan spermatozoa dengan metode *swim-up*, didasarkan pada perbedaan karakter pergerakan spermatozoa, dimana

spermatozoa pembawa kromosom Y akan bergerak lebih cepat ke permukaan media dibanding dengan spermatozoa pembawa kromosom X. Hal ini didasarkan atas perbedaan motilitas spermatozoa X dan Y sebagai implikasi dari perbedaan massa dan ukuran, spermatozoa Y lebih cepat bergerak atau mempunyai daya penetrasi yang tinggi untuk masuk ke suatu larutan (Akhdiat, 2012). *Sexing* memerlukan media pengencer yang mampu melindungi dan menyediakan lingkungan yang optimal bagi spermatozoa, agar kualitas spermatozoa hasil *sexing* dapat dipertahankan tetap baik.

Berbagai media seperti TALP, m-BO (medium *Brackett Oliphan*), TCM-199 bisa digunakan sebagai media untuk *swim-up* spermatozoa, namun masing-masing media tersebut mempunyai kelebihan masing-masing. Gorgon (1994) menyatakan bahwa salah satu media yang cocok untuk teknik *swim-up* semen, pada fertilisasi in vitro (FIV) adalah preparat calcium-free-tyrode/albumin/sodium lactate/sodium pyruvate (TALP). Berdasarkan hal tersebut, maka dilakukan penelitian untuk melihat pengaruh media dan waktu *swim-up* spermatozoa kerbau terhadap karakteristik spermatozoa kerbau yang berasal dari epididymis kerbau. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan media *swim-up* spermatozoa kerbau terbaik guna mempertahankan karakteristik spermatozoa kerbau.

## MATERI DAN METODE

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini : spermatozoa yang berasal dari epididymis kerbau, media TALP, m-BO, dan TCM-199, alkohol, NaCl fisiologis 0,9%, tissue, aquabides, darah segar kerbau. Alat - alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya : tongkat pelican/pengaduk gelas kaca, corong pemisah 25 ml, objek dan *cover glass*,

*microskop bin ocular, hemocytometer, counter, gelas erlemeyer 100 ml, gelas ukur, micropipet, alat hitung, bunsen, kamera, kertas tissue, aluminium foil, parafilm, dan alat tulis.*

Metode penelitian adalah eksperimen menggunakan Rancangan Acak Kelompok dengan 3 media *swim-up* sperma sebagai perlakuan dan hari pengambilan epididimis sebagai kelompok.

Peubah yang diamati pada penelitian ini meliputi : 1) **Persentase Motilitas Individu**. Penilaian motilitas individu spermatozoa dilakukan untuk mengetahui jumlah spermatozoa yang bergerak maju ke depan. Penentuan motilitas spermatozoa dilakukan menurut gerakan individual (Nofa *et al.*, 2017) yaitu menyiapkan preparat dengan cara meneteskan 20  $\mu$ L semen menggunakan mikropipet di atas *object glass* kemudian ditutup dengan *cover glass*. Persentase motilitas individu spermatozoa dinilai dari 0 hingga 100% secara estimasi pada lima lapang pandang dengan cara membandingkan jumlah spermatozoa yang bergerak maju ke depan dengan gerakan spermatozoa yang lainnya. Kemudian dilakukan pengamatan dibawah mikroskop dengan pembesaran 400x dan dilengkapi *heating table* (37°C), 2) **Persentase Spermatozoa Hidup**. Teknik penghitungan persentase hidup spermatozoa dilakukan dengan menggunakan pewarna yaitu *eosin-negrosin*. Adapun cara kerjanya adalah sebagai berikut : Satu tetes semen segar diteteskan pada ujung *object glass* dengan menggunakan ose. Larutan *eosin-negrosin* diteteskan satu tetes di dekat semen, kemudian keduanya dicampur. Campuran tersebut kemudian ditutup dengan *object glass* lain pada ujungnya yang membentuk sudut 45° dan ditarik ke arah ujung

yang lain (Susilawati, 2011). Hasil olesan diamati pada mikroskop dengan perbesaran 400x, spermatozoa yang menyerap warna berarti spermatozoa tersebut mati, sedang yang tidak menyerap warna berarti hidup, 3) **Tudung Akrosom Utuh (TAU)**. Tudung Akrosom Utuh (TAU) diamati dengan cara mencampurkan semen yang akan dievaluasi dengan larutan *formal saline* (NaCl fisiologis + 1% formalin) dengan perbandingan 1 : 5 ke dalam tabung *eppendorf*, dibiarkan beberapa saat dan diteteskan diatas *object glass* lalu di tutup dengan *cover glass*. Pemeriksaan dilakukan dengan mikroskop fase kontras menggunakan pembesaran 400x sebanyak minimal 200 spermatozoa (Cahya *et al.*, 2017). Tudung akrosom utuh ditandai dengan ujung kepala yang berwarna hitam. Hasil dalam satuan persen (%).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Karakteristik Semen Segar Epididymis Kerbau

Spermatozoa dikoleksi dari bagian cauda epididymis dan rataan karakteristik semen dari epididymis kerbau dapat dilihat pada Tabel 1. Semen segar yang dikoleksi dari epididymis kerbau memenuhi persyaratan untuk diolah lebih lanjut, dengan konsentrasi sperma yang tinggi, persentase spermatozoa motil  $\pm 80$  % dan persentase membran plasma utuh  $\pm 80$  %. Semen segar kerbau yang memenuhi syarat untuk diolah dan digunakan dalam program IB harus memiliki persentase spermatozoa motil di atas 65%, dan persentase spermatozoa abnormal di bawah 15% (Akhter *et al.*, 2007; Andrabi *et al.*, 2008).

Tabel 1. Rataan karakteristik semen dari cauda epididymis kerbau

Unsur	Rataan
Volume (ml)	0,5 - 1
Derajat keasaman (pH)	7
Kekentalan (konsistensi)	Kental - sangat kental
Gerakan massa (skala 1 - 3)	2 - 3
Konsentrasi (juta/ml)	1,420 - 4,300
Spermatozoa motil (%)	± 80%
Membran plasma utuh (%)	± 85%

Hasil penelitian ini lebih tinggi dari Rizal dan Riyadhi (2016) yang melaporkan bahwa rata-rata volume semen segar kerbau lumpur adalah 1,83 mL, konsistensi encer, gerakan massa 1,67, konsentrasi spermatozoa 838,33 juta/mL, persentase spermatozoa motil 69,17%, persentase spermatozoa hidup 77,67% dan membran plasma utuh 85,50. Lebih tingginya konsentrasi dan derajat kekentalan sperma hasil penelitian ini terjadi dikarenakan

perbedaan tempat koleksi spermatozoanya. Spermatozoa dalam penelitian ini dikoleksi dari epididymis kerbau dengan konsentrasi sperma yang padat dan plasma semen sedikit. Yulnawati *et al.*, (2010) melaporkan karakteristik semen segar kerbau lumpur antara lain konsentrasi spermatozoa 2,695 juta sel/mL, persentase spermatozoa motil 70%, persentase spermatozoa abnormal 6,5%, dan persentase MPU 77,5%.

### Karakteristik Spermatozoa Setelah Swim-up

Tabel 2. Karakteristik spermatozoa setelah *Swim-up*

Karakteristik (Rataan)	Media <i>Swim-up</i> spermatozoa		
	Talp	mB-O	TCM-199
Persentase motilitas	74 ± 7,35	77,5 ± 4,03 a	67,5 ± 5,12
Persentase spermatozoa hidup	90,76 ± 4,04 a	91,86 ± 4,63 a	80,73 ± 9,6
Persentase tudung akrosom utuh	81,36 ± 5,38	80,22 ± 6,35	79,62 ± 7,69

Keterangan : huruf kecil yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata ( $P < 0,05$ )

### Motilitas Spermatozoa setelah di *Swim-up*

Hasil penelitian persentase motilitas spermatozoa epididymis kerbau menunjukkan bahwa berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap ketiga media *swim-up* dengan rata-rata TALP 74,17 ± 7,35; mBO 77,5 ± 4,03; TCM-199 67,5 ± 5,15. Hasil uji lanjut menunjukkan bahwa medium BO merupakan media yang paling baik untuk mempertahankan motilitas spermatozoa

setelah *swim-up*. Jika dibandingkan dengan motilitas sebelum *swim-up* terjadi kecenderungan penurunan motilitas terhadap ketiga perlakuan hal ini karena energi yang dikeluarkan oleh sperma semakin tinggi, hal ini sejalan dengan pendapat Solihati dan Kune (2002) penurunan pergerakan progresif (motilitas) spermatozoa disebabkan oleh semakin bertambahnya jumlah spermatozoa yang rusak dan mati, ketersediaan energy dalam

media yang semakin berkurang, semakin menurunnya umur spermatozoa dan meningkatnya tingkat keasaman (pH) semen.

Hasil penelitian ini lebih tinggi dari Sianturi dan Diana (2017) yang melakukan

pemisahan spermatozoa kerbau lumpur dan sungai dengan medium Brackett Oliphant (BO) dimana dari fraksi atas didapat persentase motilitas berkisar 65 - 64,6% untuk kerbau lumpur, 57,5 - 57,7% untuk kerbau sungai dan persentase motilitas kerbau lumpur dan sungai untuk fraksi bawah didapat 56,4 - 64,0%. Hal ini menunjukkan bahwa ketiga media yang digunakan untuk proses *swim-up* spermatozoa, mampu menjadi sumber energi yang baik bagi kehidupan spermatozoa sehingga mampu mempertahankan angka motilitas spermatozoa. Motilitas (%M) memberikan gambaran mengenai kemampuan sperma dalam bergerak secara progresif. Apabila %M tinggi diharapkan akan semakin besar peluang spermatozoa mencapai tempat bertemu dengan ovum, yaitu di saluran tuba falopii dan semakin besar pula peluang untuk terjadinya fertilisasi (pembuahan), (Sianturi dan Diana, 2017).

### **ersentase Hidup Spermatozoa Kerbau Setelah di *Swim-up***

Hasil penelitian persentase hidup spermatozoa epididimis kerbau menunjukkan berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap ketiga media *swim-up* dengan rata-rata TALP  $90,76 \pm 4,04$ ; mBO  $91,86 \pm 4,63$ ; TCM-199  $80,73 \pm 9,6$ . Hasil uji lanjut menunjukkan bahwa media TALP dan medium BO tidak berpengaruh dalam mempertahankan persentase hidup spermatozoa kerbau setelah *swim-up* lebih baik dari media TCM-199.

Rataan persentase spermatozoa hidup untuk ketiga media *swim-up* yang digunakan berada di atas 80%, hal ini membuktikan bahwa ketiga media yang digunakan selain mampu

mempertahankan motilitas spermatozoa juga mampu mempertahankan daya hidup spermatozoa dengan rata-rata tertinggi pada medium BO (91,86 %).

Persentase hidup spermatozoa hasil penelitian ini juga lebih tinggi dari Sianturi dan Diana, (2017) dimana didapat persentase hidup spermatozoa hasil pemisahan menggunakan medium BO fraksi atas berkisar 72,3 - 81,6% untuk kerbau lumpur, 79,8 - 81,9 % untuk kerbau sungai dan persentase motilitas kerbau lumpur dan sungai untuk fraksi bawah didapat 76,3 - 82,7 %. Lebih tingginya persentase spermatozoa hidup pada *swim-up* spermatozoa yang berasal dari epididimis kerbau ini juga menunjukkan media yang digunakan mampu menjadi sumber energi yang baik bagi kehidupan spermatozoa, sehingga mampu mempertahankan daya hidup spermatozoa.

### **Tudung Akrosom Utuh (TAU)**

Persentase tudung akrosom utuh (TAU) spermatozoa bahwa tidak berpengaruh nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap ketiga media *swim-up* dengan rata-rata TALP  $81,36 \pm 5,38$ ; mBO  $80,22 \pm 6,35$ ; TCM-199  $79,62 \pm 7,69$ . Ini menunjukkan ketiga media yang digunakan dalam *swim-up* spermatozoa kerbau memiliki kemampuan yang sama dalam mempertahankan tudung akrosom utuh dan persentase hidup spermatozoa.

Angka ini lebih tinggi dari penelitian Ichwandi (2004) dengan persentase TAU setelah *swim-up* spermatozoa pada sapi antara 61 - 62%. Tingginya persentase TAU penelitian ini dikarenakan semen yang di *swim-up* merupakan semen segar sementara penelitian Ichwandi menggunakan menggunakan semen beku. Keutuhan tudung akrosom spermatozoa merupakan salah satu parameter penting sebagai indikator keberhasilan fertilisasi, karena pada bagian akrosom terdapat enzim akrosomal yang berfungsi untuk melisis sel-sel kumulus pada saat terjadi pertemuan spermatozoa dengan sel telur, (Ichwandi, 2004).

Persentase tudung akrosom utuh pada penelitian ini tergolong tinggi (di atas 70%), hal ini menunjukkan bahwa ketiga media *swim-up* yang digunakan mampu mempertahankan keutuhan tudung akrosom, sehingga diharapkan pada proses fertilisasi spermatozoa mampu melepaskan enzim akrosomal untuk melisis sel-sel kumulus sel telur pada proses pembuahan.

## SIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa penggunaan media medium BO mampu mempertahankan karakteristik spermatozoa epididimis kerbau *in vitro* lebih baik dari dua media yang lain.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akhdiat, T. 2012. Proporsi spermatozoa Y hasil pemisahan dengan fraksi albumin telur dan lama penyimpanan semen domba lokal. *Jurnal Ilmiah Ilmu Peternakan*. 15(2): 59-69.
- Akhter, S., Sajjad M, Andrabi S. M. H, Ullah N, dan Qayyum M. 2007. Effect of antibiotics in extender on fertility of liquid buffalo bull semen. *Pakistan Vet J*. 27: 13-16.
- Andrabi, S. M. H., Ansari M. S, Ullah N, Anwar M, Mehmood A, dan Akhter S. 2008. Duck egg yolk in extender improves the freezability of buffalo bull spermatozoa. *Anim Reprod Sci*. 104: 427-433.
- Bhalakiya, N., Haque N, Patel D, Chaudhari A, Patel G, Madhavatar M, Patel P, Hossain S, and Kumar R. 2018. Sperm *sexing* and its application in livestock sector. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci Special Issue*. 7: 259-272.
- Cahya, R. I., Ondho Y. S, dan E. T Setiatin. 2017. Persentase Membran Plasma Utuh dan Tudung Akrosom Utuh Spermatozoa Kambing Peranakan Etawah dalam Pengencer yang Berbeda. *Seminar Nasional: Sekolah Tinggi Penyusunan Pertanian (STPP) Magelang*; hal 406-416.
- Febiang, L., Saili T, dan La Ode Baa. 2018. Kualitas dan fertilitas spermatozoa sapi Bali hasil *sexing* dengan menggunakan metode *Swim-Down*. *JITRO*. 5 (2): 24-33.
- Garner, D. L., dan E. S. E. Hafez. 2008. *Spermatozoa and Seminal Plasma in Reproduction in Farm Animals 7<sup>th</sup> editon*. Ed by E. S. E. Hafez and B. Hafez. Edition Blackwell: 96-109.
- Ichwandi. 2004. Performans Motilitas, Tudung Akrosom Utuh dan Velositas Spermatozoa tanpa dan dengan Metode *Swim-up* Pasca Thawing pada Semen Beku Sapi Potong. Tesis. Semarang, Universitas Diponegoro.
- Nofa, Y., N. W. Kurniani, K, dan R. I. Arifiantini. 2017. Status Akrosom dan kualitas *post- thawed* spermatozoa pada beberapa rumpun sapi dari Balai Inseminasi Buatan. *Acta Veterinaria Indonesia*. 5(2): 81-88.
- Rizal, M., dan M. Riyadhi. 2016. Fertilitas semen kerbau rawa (*Bubalus bubalis carabanensis*) yang diencerkan dengan pengencer nira aren. *Jurnal Veteriner*. 17(3): 457-467.
- Sianturi, R. G., dan Diana, A. K. 2017. Pengaruh Waktu Pemisahan Spermatozoa

terhadap Kualitas Sperma Kerbau Hasil Sexing. Prosiding Seminar Teknologi dan Agribisnis Peternakan V, Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman.

Steel, R. G. D and Torrie, J. H. 1995. Prinsip dan Prosedur Statistika. Jakarta, PT. Gramedia Pustaka Utama. (Diterjemahkan oleh B. Sumantri).

Susilawati, T. 2014. Sexing Spermatozoa (Hasil Penelitian Laboratorium dan Aplikasi pada Sapi dan Kambing). Malang, Universitas Brawijaya Press (UB Press).

Susilawati, T. 2011. Spermatologi. Malang, Universitas Brawijaya Press (UB Press).

Yulnawati, Gunawan, M, Maheshwari, H, Rizal, M, Herdis, dan Boediono, A. 2010. Quality of ejaculated and epididymal sperms spotted buffalo in dextrose supplemented extender. Hayati. 17:: 27-30.