

Pengaruh Pemberian Heparin pada Level yang Berbeda pada Semen Beku Sapi Limousin Hasil Sexing dengan Menggunakan Albumen Telur Ayam

Andi Hamdana¹⁾, Herry Sonjaya²⁾ dan Abd. Latief Toleng²⁾

¹⁾ Prodi Peternakan, Fakultas Pertanian, Peternakan dan Kehutanan, Universitas Muslim Maros

²⁾ Program Studi Pruduksi Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin.

e-mail: andihamdana1982@gmail.com

ABSTRAK

Teknologi inseminasi Buatan merupakan salah satu cara meningkatkan daya produksi ternak melalui perbaikan mutu genetik yaitu dengan inseminasi Buatan. Keberhasilan IB sangat tergantung pada kualitas semen yang digunakan. Untuk mendapatkan ternak sapi dengan jenis kelamin yang di inginkan adalah dengan pemisahan spermatozoa X dan Y. Pemisahan sperma dapat dilakukan berdasarkan pertimbangan adanya perbedaan sperma pembawa kromozom X dan Y berdasarkan kualitas dan kuantitas DNA yang terdapat dalam kromozom seks. Dengan penambahan Heparin pada media pemisah dapat merangsang motilitas dan pergerakan dari spermatozoa sapi setelah pemisahan kromozom X dan Y, dimana Heparin dapat bekerja secara sinergis mempercepat kapasitas dan reaksi akrozom. Tujuan dari Penelitian ini adalah unuk mengetahui tingkat motilitas Spermatozoa pada semen beku yang media pengencernya ditambahkan heparin dengan level yang berbeda. Kegunaannya adalah untuk memberikan informasi mengenai fungsi dari heparin dalam bahan pengencer semen beku terhadap motilitas spermatozoa sapi Limousin.

Kata kunci: IB, kromozom seks, sapi

PENDAHULUAN

Teknologi Inseminasi Buatan merupakan salah satu cara meningkatkan daya produksi ternak melalui perbaikan mutu genetik. Kebersihan IB sangat tergantung pada kualitas semen yang digunakan. Semen yang berkualitas diperoleh dari pejantan unggul yang sehat, tumbuh dan berkembang secara optimal.

Usaha yang dapat dilakukan untuk mendapatkan jumlah ternak sapi dengan jenis kelamin yang diinginkan adalah dengan pemisahan spermatozoa X dan Y, dimana proses pemisahan ini akan memudahkan kita dalam pemilihan jenis kelamin yang diinginkan sehingga efisiensi usaha peternakan dapat meningkat.

Pemisahan sperma dapat dilakukan berdasarkan pertimbangan

adanya perbedaan sperma pembawa kromozom X dan Y berdasarkan pertimbangan adanya perbedaan sperma pembawa kromozom X dan Y berdasarkan kualitas dan kuantitas DNA yang terdapat dalam kromozom seks, perbedaan kuantitas DNA antara sperma pembawa kromozom X dan Y berdasarkan persentase DNA, dimana hewan mamalia berkisar antara 2,5% sampai 4,5%. Nukleus pada sperma mengandung protein yang beratnya sama dengan berat DNA dalam bentuk protamine yang mempengaruhi perbedaan kuantitas antara sperma pembawa kromozom X dan Y, sehingga berat kering sperma pembawa kromozom X dan Y berbeda nyata 25% (Meistrich, 1982), dengan menggunakan albumen telur ayam pemisahan antara sperma X dan Y dapat dilakukan.

Dengan penambahan heparin pada media pemisah dapat merangsang motilitas dan pergerakan dari spermatozoa sapi setelah pemisahan kromosom X dan Y, dimana heparin dapat bekerja secara sinergis mempercepat kapasitas dan reaksi akrosom (Park, Ohgoda, Niwa, 1989). Hasil penelitian yang telah dilakukan pada semen kambing yang ditambahkan heparin didapatkan, bahwa penambahan heparin mengurangi laju motilitas spermatozoa dan persentasi hidup spermatozoa kambing boer hasil sexing selama penyimpanan (Nuranti, 2005).

Dari uraian diatas maka kami mencoba untuk meneliti kemungkinan dengan penambahan level heparin ke dalam media pengencer pada semen beku dapat mengurangi laju penurunan motilitas hasil pemisahan kromosom X dan Y pada semen sapi Limousin dengan menggunakan level heparin yang berbeda.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui tingkat motilitas spermatozoa pada semen beku yang media pengencernya ditambahkan heparin dengan level yang berbeda.

Kegunaannya adalah untuk memberikan informasi mengenai fungsi dari heparin dalam bahan pengencer semen beku terhadap motilitas spermatozoa sapi Limousin.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian mengenai pengaruh pemberian heparin pada level yang berbeda pada semen beku sapi limousin hasil sexing yang menggunakan albumen telur ayam, dilaksanakan pada bulan April sampai Mei, bertempat di Unit Pengembangan Ternak Daerah - Inseminiasi Buatan (UOTD - IB) Jongaya Makassar dan di Laboratorium Fisiologi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin, Makassar

Materi Penelitian

Peralatan yang digunakan pada pelaksanaan penelitian ini adalah seperangkat alat vagina buatan, tabung reaksi, gelas ukur, pipet volume, centrifuge, termometer, lensa mikrometer, bunsene, labu erlenmeyer, spoit, saringan, kapas, kertas label, objek glass dan deck glass.

Bahan yang digunakan pada pelaksanaan penelitian ini adalah semen sapi Limousin yang ditampung dengan menggunakan metode vagina buatan (VB), albumen telur ayam ras sebagai media pemisah, alkohol, eosin, NaCl 0,9%, larutan pengencer andromed (aquabides, fruktosa, gliserol, adicum citricum, buffer, posfolipid, spektimocint 30 mg, Lincomisin 15 mg dan gentamicin 25 mg) dan heparin dengan volume 0,2 dan 4 lu/ml.

Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial ($2 \times 3 \times 6$) untuk motilitas dan pola faktorial ($2 \times 3 \times 6$) persentase hidup dengan 4 kali ulangan dimana 1 faktor pengukuran berulang dimana Faktor A adalah medium pemisah (A1 : 10 % dan A2 : 30%), Faktor B adalah level Heparin (B1 : 0 IU/ml dan 4 IU/ml) serta Faktor C adalah (pengamatan semen segar, setelah sexing, setelah penambahan heparin, serta setelah PTM 0jam, 3 jam dan 6 jam)

Pelaksanaan penelitian terdiri dari beberapa tahapan sebagai berikut :

a. Pembuatan Media Pemisah

Untuk media pemisah dengan konsentrasi 30%, albumen telur sebanyak 30 ml dimasukkan kedalam 70 ml NaCl 0,9 dan media pemisah dengan konsentrasi 10% sebanyak 10 ml dimasukkan kedalam 90 ml NaCl 0,9% kemudian dihomogengkan selama 20 menit. Setelah media pemisah tersedia kemudian disimpan pada temperatur 5⁰ C.

- b. Penampung Semen
Tahap ini diawali dengan penampungan semen dengan menggunakan vagina buatan. Setelah semen tertampung, segera dilakukan penilaian secara makropis (Warna, PH, volume dan Kosistensi) dan mikroskopis (gerakan massa, gerakan individu, persentase motilitas dan konsentrasi sperma)
- c. Pengenceran Semen
Semen sapi Limousin yang telah dievaluasi kemudian diencerkan dengan pengencer dengan perbandingan 1 cc semen : 1 pengencer.
- d. Pemisahan Spermatozoa pembawa kromozom X dan Y
Berdasarkan media pemisah setiap fraksi semen disedot dengan menggunakan pipet dan ditampung dalam tabung reaksi masing-masing 1ml dan dibiarkan selama ± 30 menit. Berdasarkan media pemisah setiap fraksi semen disedot dengan menggunakan pipet dan ditampung dalam tabung reaksi kemudian semen disentrifuge selama 20 menit dengan kecepatan 2500 rpm. Kemudian sampel ditambahkan larutan pengencer masing-masing untuk mendapatkan endapan spermatozoa yang bersih dari medium pemisah. Setelah itu sampel disimpan dalam lemari pendingin selama 20 menit, kemudian ditambahkan level heparin (0,2 dan 4 IU/ml).
- e. Pengemasan Semen dan Ekuilibrisasi
Pengemasan kedalam mini straw, dilakukan di dalam ruangan dingin setelah itu dilakukan ekuilibrisasi yaitu proses penyesuaian spermatozoa terhadap glycerol agar sewaktu pembekuan kematian sperma yang berlebihan dapat dicegah. Kemudian dimasukkan kedalam uap N2 cair selama 2 menit.
- f. Thawing dan Pemeriksaan kualitas semen beku

Semen yang telah dibekukan selama dua hari kemudian di angkat dari nitrogen cair dan dimasukkan ke dalam air hangat (30⁰ C) selama 15- 30 detik. Straw digunakan pada bagian tengah untuk mengeluarkan semen kemudian dilakukan pemeriksaan mikroskopis.

Parameter yang diukur setelah perlakuan

- 1. Persentase motilitas yaitu semen segar, setelah sexing, penambahan heparin serta setelah 0,3 dan 6 jam
- 2. Persentasi hidup setelah 0,3 jam dan 6 jam

Analisis Data

Data yang diperoleh ini akan dianalisa berdasarkan analisis ragam, dengan paket SPSS 10,0 For Windows

Model matematika rancangan percobaan yang digunakan adalah :

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + \eta_{ijl} + C_k + (AC)_{ik} + (BC)_{jk} + (ABC)_{ijk} + \epsilon_{ijkl}$$

- I = 1,2 (Medium pemisah)
- J = 1, 2, 3, (Level heparin dengan perlakuan kontrol, 2 IU/ML, 4 IU/ml
- k = 1, 2, 3, 4, 5, 6,(pengamatan semen segar, medium pemisah, penambahan heparin, setelah PTM 0 jam, 3 jam dan 6 jam) untuk motilitas dan 1, 2, 3 (setelah PTM 0jam, 3 jam dan 6 jam) untuk persentasi Hidup
- l = 1, 2, 3, 4 (Ulangan).

Keterangan :

Yijkl= Kualitas Spermatozoa hasil pemisahan pada petak percobaan ke - I yang diperoleh kombinasi perlakuan ijk (taraf ke i dari faktor perlakuan konsentrasi medium pemisah 10% dan 30% dan taraf ke- i dari faktor tingkat penambahan heparin.

- μ = Nilai rata-rata umum kualitas spermatozoa
- A_i = Pengaruh konsentrasi media pemisah 10% dan 30% ke-i
- B_j = Pengaruh perlakuan penambahan heparin pada konsentrasi ke-j
- $(AB)_i$ = Pengaruh interaksi taraf ke-i faktor A dan taraf ke-j faktor B
- η_{ijkl} = Pengaruh galat percobaan pada kelompok ke -I yang memperoleh taraf ke- i faktor A, taraf ke - j faktor B
- C_k = Pengaruh aditif dari taraf ke- k faktor C
- $(AC)_{ik}$ = Pengaruh interaksi taraf ke-i faktor A dan taraf ke- k faktor C
- $(BC)_{jk}$ = Pengaruh interaksi taraf ke-j faktor B dan taraf ke-k faktor C

- $(ABC)_{ijk}$ = Pengaruh interaksi taraf ke-i faktor A, taraf ke-j faktor B dan taraf ke-k faktor C
- ϵ_{ijkl} = Pengaruh galat percobaan pada kelompok ke- I yang memperoleh taraf ke- i faktor A, taraf ke-j faktor B dan taraf ke-k faktor C.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Semen Beku Sapi Limousin.

Karakteristik semen sapi Limousin yang digunakan pada penelitian tertera pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Semen Sapi Limousin yang digunakan pada penelitian

Parameter	Nilai
A. Makroskopis	
Warna	Putih susu
Kosistensi	Sedang
PH	5,7
Volume	4,375
B. Mikroskopis	
Gerakan Massa	(++) sampai (+++)
Motilitas Individu	70%
Konsentrasi(Juta/ml)	758,25

Pada penelitian yang telah dilakukan, semen segar sebelum diproses sesuai dengan perlakuan terlebih dahulu dilakukan pemeriksaan secara makroskopis dan mikroskopis. Penilaian secara makroskopis meliputi pemeriksaan warna, kosistensi, pH, dan volume, sedangkan pemeriksaan secara mikroskopis meliputi pemeriksaan gerakan massa, dan konsentrasi. Hal ini sesuai dengan pendapat Toelihere (1993) bahwa penilaian semen dilakukan setelah penampungan, baik secara makroskopis maupun mikroskopis

Semen segar sapi Limousin pada penelitian yang telah dilakukan berwarna putih susu, hal ini sesuai dengan pendapat Parodihardjo (1992) bahwa warna semen segar yang baik adalah

warna krem atau warna putih susu, sedangkan bila semen segar berwarna hijau kekuning-kuningan artinya semen mengandung kuman *Pseudomonas auriginosa*, semen yang berwarna merah berarti mengandung darah dan bila berwarna coklat berarti semen tersebut mengandung nanah, serta apabila di dalam penampungan vagina buatan yang digunakan kurang bagus sehingga vaselin serta air hangat yang ada di vagina buatan masuk ke dalam semen segar. Sehingga apabila terjadi hal seperti ini maka akan mengurangi kualitas dari semen yang akan dibekukan dan persentasi motilitas akan berkurang.

Kosistensi semen segar sapi Limousin yang digunakan disini adalah konsistensinya sedang, hal ini

menunjukkan semen yang digunakan masih tergolong bagus karena memiliki konsistensi 500 - 600 juta per ml. Menurut pendapat Toilihere (1993) konsistensi atau derajat kekentalan pada sapi kental berwarna krem, dengan konsentrasi 300 - 2500 juta per ml. Suatu konsistensi seperti susu encer memiliki konsentrasi 500 - 600 juta per ml. Semen cair yang berwarna atau hanya sedikit kekeruhan konsentrasi sekitar 100 juta sel per ml dan yang jernih seperti air kurang dari 50 juta per ml.

pH sapi limousin yang digunakan adalah didapatkan rata-rata 5,7 dari hasil yang didapatkan ini membuktikan bahwa pH condong ke arah basa, hal ini mungkin disebabkan semen yang digunakan banyak mengandung cairan yang banyak berasal dari urethralis dan kelenjar pelengkap hal ini sesuai dengan pendapat Salisbury dan Vandenmark, (1985) bahwa kebanyakan air mani normal yang dikumpulkan, condong ke arah asam dari pH yang normal dengan variasi sekitar 6,5 - 6,9.

Toilihere (1993) mengemukakan bahwa volume semen yang diejakulasikan oleh pejantan dapat berbeda-beda menurut umur pejantan, rasa, besar dan beratnya hewan, frekuensi penampungan serta beberapa faktor lainnya. Pada penelitian ini rata-rata volume ejakulat didapatkan adalah 4,375 cc hal ini sesuai dengan Toilihere (1993) bahwa volume semen sapi bervariasi antara 1,0 sampai 15,0 ml. Volume rendah tidak meragukan, tetapi bila disertai dengan konsentrasi yang sperma yang rendah akan membatasi jumlah spermatozoa yang tersedia.

Gerakan massa semen yang didapatkan rata-rata yang didapatkan adalah (++) dinyatakan baik hal ini sesuai dengan pendapat Partodihardjo (1992) bahwa nilai (++) dinyatakan baik karena terlihat gelombannya cukup aktif dalam pengamatan mikroskopis.

Persentasi hidup semen segar penelitian pada tiga kali penampungan yang diperoleh adalah 70%. Hasil ini tergolong cukup baik karena menurut

Hafez (1993) bahwa persentasi hidup spermatozoa harus lebih dari 50%.

Konsentrasi semen sapi Limousin yang didapatkan selama penampungan adalah 857,25, hasil ini cukup normal, hal ini sesuai dengan Toilihere (1993) bahwa konsistensi atau derajat kekentalan pada sapi kental berwarna krem, dengan konsentrasi 300 - 2500 juta per ml.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Heparin dapat mengurangi laju penurunan pada persentase hidup spermatozoa sapi Limousin setelah thawing

Saran

Untuk meningkatkan produksi dan produktivitas ternak dapat dilakukan teknologi IB dengan menggunakan spermatozoa hasing sexing yang di tambahkan dengan heparin yang dapat merangsang motilitas yang tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. (1998). Prosedur dan Tatacara Kerja dan Distribusi Semen Beku. Direktorat Jenderal Peternakan Departemen Pertanian. BIB Lembang. Bandung.
- . (2002). Buku Panduan Sexing Spermatozoa. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, Malang.
- . (2006). Vashes du Monde. La Limousin. <http://www.lavache.com/vamonde/france/limousin.htm>. 2-13-2006.
- Cormier, N., Balley, J.L. (2003). A Differential Mechanism is Involved During Haperin and Cryopservatio- Induced Capacitation of Bovine Spermatozoa. Departement Sciences Animales Universite Laval, Canada.

- Dorland. (1996). Kamus Kedokteran. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Evans, G., and Maxwell, W.M.C. (1990). Salamon Artificial Insemination of Sheep and Goat. Butterworths Pty Limited, Australia.
- Gasperz, V. (1991). Metode Rancangan Percobaan. Armico, Bandung
- Hafez, E.S.E. (1993). Reproduction in Farm Animals. 7th Edition. Lea Febiger. Philadelphia : 440- 443..
- Hastuti. (2005). Kualitas Semen Kambing Boer Hasil Sexing Spermatozoa X dan Y dengan Penambahan Calcium Ionophore Pada Level yang Berbeda. Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Hunter, R.H.F. (1995). Fisiologi dan Teknologi Reproduksi Hewan Betina Domestik. ITB, Bandung.
- Isnani, N. (1994). Pemisahan Spermatozoa X dan Y pada sepi Fries Holland dengan Centrifuge Gradien Densitas Percoll. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya. Malang, Akses 04 Desember 2004. Hhttp://digilib.Brawijaya.ac.id
- Johnson, L.A. (2000). Sexing Mammalia Sperm for Production of off spring : the State of-the-art, Anim. Reprod.Sc. 60-61 : 93- 107.
- Max well, W.M.C. and Watson. (1996). Recent Progress in the preservation of ram semen. Animal Reproduction Research and Practice 13th International Kongress on Animal Reproduction. Stone and Evan (editor), Elsevier. Sidney, Australia.
- Mahaputra, L. Wurlina, T.D. Sulistyati, S. Mulyati. (1998). Pemisahan Spermatozoa Domba dengan Sephadex Collum G-200. Media Kedokteran Hewan. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya.
- Mc. Williams. (1997). Foods Experimental Perpestives Third Edition. Prentive Hall. Inc, New Jersey.
- Meustrich. M.L. (1982). Potential and Limitation of Phisical Method for Sparating of Sperm. Baring an X OR Y Cromosome. In Posppect for Sexing Mammalia Sperm. Edition. Rp Amman and G.E, Seidel., 143-168.
- Nuranthy. (2005). Pengaruh Penambahan Heparin pada level yang Berbeda Terhadap Kualitas Semen Cair Kambing Boer Hasil Pemisahan Spermatozoa X dan Y, Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin,
- Nur. K,S. (2006). Peternak Sapi di Ngalik, Sleman. Yogyakarta. <http://www.PikiranRakyatCom>
- Partodiharjo, S. (1992). Ilmu Reproduction Hewan. Mutiara, Jakarta.
- Pancahastana, H. (1999). Upaya merubah sex rasio spermatozoa dengan melakukan pemisahan spermatozoa X dan Y menggunakan putih telur pada sapi Bali. Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya, Malang.
- Pereire, R.J.T.A., R.k. Uli., S. Walledshortand W. Holtz. (2000). The Effect of Heparin, Cafferin, and Calsium IonphorebA 23187 an in vitro induction of the acrosome reaction in frozen-thawed bovine and caprine Spermatozoa. J. Theriogonology. 54 : 185-192.
- Saili, T. (1999). Efektivitas Penggunaan Albumen sebagai Medium Separasi dalam Upaya Mengubah Rasio Alamiah Spermatozoa Pembawa Kromosom X dan Y pada Sapi. Tesis Pasca Sarjana IPB,Bogor.
- Salisbury, G.W. and N.L Vand Denmark. (1985). Fisiologi Reproduction dan Insemination Buatan pada Sapi. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.

- Susilawati, T. (2003). Penentuan dan Pengaturan Jenis Kelamin. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, Malang.
- Sumitro,S.B. Soehartojo, Mantra, Y dan Nuryadi. (2002). Pola Kapasitasi Spermatozoa X dan Y sapi Hasil Pemisahan dengan Menggunakan Filtrasi Sephadex, dan Sentrifuge Gradien Densites Percoll. Fakultas Peternakan Unibaw, Fakultas Peternakan Unibraw, Fakultas MIPA unibraw, Fakultas Kedokteran Hewan Unair. Dispet NTT. Akses 06 Desember 2005, <http://diglib.brawijaya.ac.id>
- Toelihere, M.R. (1993). Inseminasi Buatan pada Ternak. Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor. Angsa, Bandung.
- Dan T.L. Yusuf.1985. Pengantar Praktikum Inseminasi Buatan Edisi 4. Fakultas Kedokteran Hewan, IPB. Bandung.
- Vishwanath, R. And Shannon. 2000. Storage of Bovine Semen in Liquid and Frozen State. Anim. Reprod. Sci 62 : 23-53
- Watson, P.F. 2000. The Causes of Reduced Fertility with Cryoserved Semen. Anim. Reprod. Sci. 60-61 : 481 - 492