

Penambahan Trehalosa Bahan Pengencer Tris Kuning Telur terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Simmental

The Adding of Trehalosa the Egg Prossing Yellow Tris Ingredients the Frozen Semen of The Simmental Cattle

Wulandari¹, Siti Hanifah¹, Atika Dwi Putri¹, Indah Mardhiyah¹, Jaswandi²

¹Mahasiswa Program Studi Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Andalas, Padang

²Fakultas Peternakan, Universitas Andalas, Padang

*Corresponding Author: jaswandij@ansci.unand.ac.id

(Diterima: 28 Juli 2024; Disetujui: 24 September 2024; Terbit: 31 Oktober 2024)

ABSTRAK

Penelitian dilakukan untuk meningkatkan kualitas dari semen beku sapi Simmental dengan materi berupa semen segar yang kualitas semen segarnya telah dilakukan pengujian. Penelitian menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) masing-masing perlakuan ditambahkan trehalosa dengan dosis yang berbeda-beda mulai dari 0%, 0,5%, 1%, dan 1,5% dengan variabel terdiri dari motilitas, persentase hidup spermatozoa, membran plasma utuh, tudung akrosom utuh dan abnormalitas spermatozoa. Penelitian menunjukkan hasil dari penambahan trehalosa memberikan pengaruh yang signifikan ($P>0,05$) terhadap motilitas, persentase hidup spermatozoa, MPU, TAU dan abnormalitas, memberikan hasil terbaik pada dosis penambahan trehalosa 0,5%, dimana ditemukan motilitas 76,77%, persentase hidup spermatozoa 59,62%, MPU 59,50%, TAU 62,00% dan abnormalitas 12,37%. Kesimpulan dari penelitian ini penambahan trehalosa dapat meningkatkan kualitas semen beku sapi Simmental.

Kata kunci: kuning telur-tris, simmental, trehalosa

ABSTRACT

This study of were made to increase the quality of Simmental cattle frozen semen with material in the form of fresh semen the quality has done tested. This study used a randomized block design the each treatment given consisted addition of trehalose dose 0%, 0.5%, 1% and 1.5% with variables in this study included motility, life spermatozoa procentage, intact plasma membrane, intact acrosome cap and abnormality. This study the results of indicated than the addition of trehalose had a significant effect ($P>0.05$) on the motility, life spermatozoa procentage, MPU, TAU and abnormality, given the best possible result to a dose of trehalose additions of 0.5% the best results, motility was found 76.77%, life spermatozoa procentage 59.62%, MPU 59.50%, TAU 62.00% and abnormality 12.37%. The concluded than this study be addition of Trehalosa to increase the frozen semen quality of Simmental cattle.

Keywords: egg yolk-tris, simmental, trehalosa

PENDAHULUAN

Sapi Simmental merupakan salah satu bangsa sapi potong yang mempunyai pertumbuhan cepat, disenangi oleh peternak karena memiliki keunggulan yaitu pertumbuhan badan yang relatif cepat, fertilitas tinggi dan mudah beranak. Jenis

sapi Simmental memiliki badan lebih tinggi dibandingkan sapi lokal (Yendraliza dkk., 2023). Berdasarkan pada keunggulan yang disebutkan sebelumnya diatas, banyak masyarakat di Sumatera Barat yang meyakini bahwa Sapi Simmental dapat memenuhi kebutuhan daging masyarakat. Badan Pusat Statistik Provinsi Sumatera Barat (2022)

menunjukkan rata-rata populasi sapi potong tercatat sebanyak 400,033 ekor, hal ini mengalami penurunan dari tahun sebelumnya 421,955 ekor. Teknologi diperlukan untuk dapat meningkatkan populasi dan produktivitas sapi secara cepat dan efisien (Zaenuri dkk., 2023)

Salah satu bioteknologi untuk meningkatkan populasi sapi dengan produktivitas tertinggi adalah dengan meningkatkan inseminasi buatan (IB). Teknologi alternatif inseminasi buatan saat ini banyak digunakan untuk meningkatkan produktivitas populasi ternak dan mengoptimalkan pemanfaatan semen pejantan yang memiliki potensi genetik unggul sehingga memungkinkan ternak unggul untuk menghasilkan keturunan dalam jumlah besar (Hikmawan dkk., 2016). Pelaksanaan IB dilapangan sangat bergantung pada beberapa faktor, salah satunya adalah kondisi semen yang digunakan. Kendala dalam memanfaatkan semen segar yakni memiliki daya simpan yang relatif singkat terutama pada suhu ruang (Awang dkk., 2022)

Berdasarkan kendala tersebut salah satu upaya yang dilakukan adalah dengan pembekuan semen. Semen beku diartikan sebagai air mani yang telah ditentukan kemudian dibekukan di bawah titik udara beku (Putra dkk., 2019). Namun demikian, proses pembekuan akan menurunkan kualitas semen hingga 50% dari semen segar (Tethool dkk., 2022). Hal ini disebabkan spermatozoa pada setiap hewan memiliki komposisi membran dan daya tahan yang berbeda. Spermatozoa menggunakan membran plasma sebagai penghalang organel dalam sel dan sebagai sarana mendeteksi zat intraseluler dan ekstraseluler yang menghambat kemampuan spermatozoa untuk menempel pada permukaan (Fazrien dkk., 2020).

Untuk mempertahankan kualitas semen pada proses semen dibekukan, dibutuhkan bahan pengencer untuk kebutuhan hidup spermatozoa (Hikmawan dkk., 2016). Bahan pengencer yang banyak digunakan adalah tris (hydroxymethyl) aminomethan

disuplementasi dengan kuning telur, asam sitrat, fruktosa, dan gliserol yang berfungsi untuk melindungi sel sperma dari kejutan dingin saat implantasi, bahan lainnya yang juga ditambahkan untuk meningkatkan kualitas semen beku yaitu trehalosa, sukrosa dan laktosa. Penelitian Syahminan (2023), melakukan penambahan trehalosa pada semen beku sapi pesisir, sedangkan pada penelitian ini dilakukan pada sapi Simmental dengan peluang keberhasilan tinggi karena jenis sapi dengan kualitas semen unggul serta fertilitas tinggi dibandingkan pada penelitian sebelumnya. Trehalosa banyak ditemukan pada organisme tingkat rendah bakteri dan jamur, tanaman tingkat rendah serta pada tanaman teradaptasi pada kehidupan yang keras.

METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan pada bulan April – Juli 2024 yang bertempat di Balai Pengembangan Teknologi dan Sumberdaya (BPTSD) Tuah Sakato Payakumbuh dan Laboratorium Bioteknologi Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Andalas.

Materi Penelitian

Semen segar diperoleh dari sapi Simmental berumur lebih kurang 4 tahun dan telah teruji kualitas semennya yang diketahui dengan melakukan pengamatan terhadap kualitas semen segar sebelum pengenceran. Bahan pengencer terdiri Tris Hydroxy amino methane, asam sitrat, fruktose, kuning telur itik, N₂ cair, NaCl, gliserol, dan pewarna eosin

Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimen menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) 4 x 4 (4 perlakuan trehalosa dan 4 kali ulangan pengambilan sampel semen). Perlakuan yang digunakan adalah 80% pengencer Tris ditambah 20% kuning telur berbagai dosis trehalosa yang disusun dalam kelompok: 0%, 0,5%, 1%, 1,5% trehalosa.

Tabel 1. Kualitas semen segar sapi Simmental

No	Volume	Konsistensi	pH	Gerakan Massa (++++)	Motilitas (%)	Konsentrasi (10 ⁶)
U1	4,3	Kental	6,5	+++	86	1632
U2	4,5	Sedang	6,4	++	83	1539
U3	6,2	Sedang	6,4	++	81	874
U4	6,0	Sedang	6,4	++	84	1819

Peubah Yang Diamati

Membran Plasma Utuh (MPU)

MPU dilakukan pengamatan dengan metoda HOS-Tes dilakukan perhitungan terhadap 100 spermatozoa dengan perhitungan persentase spermatozoa yang bereaksi terhadap larutan HOS-Tes.

Motilitas Spermatozoa

Analisis motilitas dilakukan menggunakan CASA (*Computerized Assisted Sperm Analysis*) (Sperm vision, Minitub, Germany).

Persentase Hidup Spermatozoa

Evaluasi spermatozoa hidup menggunakan eosin 2% dalam NaCL fisiologis untuk membuat media stain. Spermatozoa yang berwarna merah menandai sudah mati dan yang tidak berwarna dinyatakan hidup, artinya tidak menyerap eosin.

Abnormalitas Spermatozoa

Pengamatan abnormalitas dilakukan dengan membuat preparat ulas yang tipis dengan pewarnaan differensial, spermatozoa yang diamati minimal sebanyak 200 sel atau 5 lapang pandang menggunakan mikroskop cahaya 400 \times , menggunakan gelas objek untuk membuat kaca preparat ulas dengan sudut 45 $^{\circ}$.

Tudung Akrosom Utuh

Satu tetes semen dimasukkan ke dalam microtube berisi larutan formol-saline (2,54 g potassium dihydrogen phosphate, 5,41 g sodium chloride, 6,19 g di- sodium hydrogen phosphate dehydrate, 125 ml formaldehyde solution (37%), dan 875 ml aquadest. Pengamatan diamati pada mikroskop perbesaran 400x.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada Tabel 2. menunjukkan hasil dengan perlakuan trehalosa berbagai kosentrasi terhadap persentase spermatozoa setelah pembekuan mendapatkan perbedaan sangat signifikan ($P>0,01$).

Motilitas

Hasil uji lanjut DMRT menunjukkan bahwa rata-rata persentase Motilitas memperlihatkan pada spermatozoa sapi Simmental setelah pembekuan tertinggi ditemukan pada perlakuan 1% yaitu 76,778 %, 1,5% menunjukkan hasil terendah yaitu 63,77%. Penelitian menunjukkan hasil meningkat dibandingkan dengan penelitian Syahminan *et al.* (2023) yang mendapatkan persentase motilitas tertinggi pada penambahan trehalosa yaitu 53% dan 43% terendah.

Proses kriopreservasi menyebabkan timbulnya tekanan mekanis dan kimiawi pada spermatozoa, yang tercermin pada motilitas, viabilitas, dan fertilitas pasca pencairan yang menurun. Sesuai dengan pernyataan Kumar *et al.* (2013) yang menyampaikan pada kristalisasi es intraseluler selama kriopreservasi merupakan penyebab utama kerusakan sel yang tidak mendapatkan penanganan yang tepat.

Persentase Hidup Spermatozoa

Hasil uji lanjut DMRT menunjukkan bahwa rata-rata persentase hidup spermatozoa memperlihatkan pada spermatozoa sapi Simmental setelah pembekuan tertinggi ditemukan pada 1,5% yaitu 62,00% dan

Tabel 2. Kualitas semen beku sapi Simmental

Perlakuan	Abnormalitas (%)	Motilitas (%)	MPU (%)	PHS (%)	TAU (%)
T0	11.250 ± 0.65 ^a	74.943 ± 4.99 ^{ab}	57.000 ± 5.34 ^a	58.500 ± 3.89 ^a	60.125 ± 2.25 ^a
T1	12.375 ± 0.75 ^a	76.778 ± 2.00 ^b	59.500 ± 4.14 ^{ab}	59.625 ± 3.68 ^{ab}	62.000 ± 2.80 ^{ab}
T2	15.625 ± 1.38 ^b	72.170 ± 13.44 ^{ab}	62.625 ± 5.07 ^b	60.500 ± 3.11 ^{ab}	63.625 ± 1.89 ^{bc}
T3	18.625 ± 1.11 ^c	63.775 ± 13.40 ^a	62.000 ± 7.35 ^b	62.000 ± 4.85 ^b	65.500 ± 2.08 ^c

Keterangan: ^{abc} Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan (P<0,05).

pada 0% terendah yaitu 58,50%. Penelitian menunjukan hasil meningkat dibandingkan dengan penelitian Syahminan *et al.* (2023), namun menurun dibandingkan dengan Silvia (2019) yang mendapatkan persentase hidup spermatozoa tertinggi pada penambahan trehalosa yaitu 64,50%, dan terendah 60,38% pada kadar trehalosa 1,5%.

Plufo *et al.* (2015) menyatakan karena dari kemampuannya untuk mengikat hidrogen ke membran fosfolipid polar, trehalosa mencegah pembentukan molekul udara dan mencegah kerusakan membran plasma. Kemampuannya untuk mengikat hidrogen membran fosfolipid polar, trehalosa dapat memiliki pencegahan terhadap kerusakan membran plasma. Efek krioprotektif trehalosa ini merupakan faktor yang meningkatkan harapan hidup spermatozoa karena dapat mengurangi molekul udara sehingga mengurangi kemungkinan terjadinya efek kristal pada spermatozoa. Oztürk *et al.* (2019) menyampaikan bahwa trehalosa mengurangi ukuran molekul udara dan meningkatkan efek perlindungan di lingkungan ekstraseluler meskipun trehalosa memiliki efek krioprotektif pada sperma, konsentrasi trehalosa yang lebih tinggi dapat menurunkan indikator kualitas sperma, mengakibatkan keseimbangan osmotik intraseluler terganggu.

Abnormalitas

Hasil uji lanjut DMRT menunjukan

bahwa rata-rata persentase abnormalitas memperlihatkan pada spermatozoa sapi Simmental setelah pembekuan tertinggi perlakuan 1,5% yaitu 18,62 %, dan 0% dengan terendah yaitu 11,2%. Hasil penelitian ini menurun dibandingkan dengan Silvia (2019) yang mendapatkan persentase abnormalitas tertinggi pada penambahan trehalosa sapi Brahman yaitu pada perlakuan 1,5% yaitu 25,50%, dan terendah pada 0% yaitu 12,75%.

Penyebab semakin bertambahnya jumlah spermatozoa abnormal akibat pembekuan kemungkinan karena adaptasi sperma setelah diberi bahan pengencer. Hal ini sesuai dengan pernyataan Silvia (2019) menyatakan spermatozoa adaptasi terhadap bahan pengencer dapat memengaruhi permeabilitas membran, aktivitas metabolisme, kerusakan sel, dan motilitas spermatozoa. Peningkatan konsentrasi meningkatkan persentase abnormal ini disebabkan oleh lipoprotein yang ditemukan dalam telur kuning, yang selanjutnya melemahkan fungsi perlindungan spermatozoa terhadap dingin.

Membran Plasma Utuh (MPU)

Hasil uji lanjut DMRT menunjukan bahwa membran plasma utuh (MPU) memperlihatkan pada spermatozoa sapi Simmental setelah pembekuan tertinggi ditemukan pada perlakuan 1% yaitu 62,62%, dan 0% terendah yaitu 57,00%. Hasil penelitian ini menurun dibandingkan dengan

Syahminan *et al.* (2023) pada penambahan trehalosa yaitu 63%, dan 55% dengan kadar trehalosa 1,5%. Trehalosa menyebabkan spermatozoa kehilangan membran plasmanya, yang menghasilkan efek krioprotektif yang disebabkan oleh dua mekanisme membran plasma mereka. Hal ini di dalam hipertrofi ekstraseluler yang mengurangi tekanan udara dari laut dan menghambat kristalisasi intraseluler selama pembekuan (Oztürk *et al.*, 2019). Peningkatan kualitas sperma yang didinginkan dan pasca-pencairan dengan menambahkan Trehalosa adalah karena mengurangi semua cedera yang disebabkan oleh kristalisasi karena Trehalosa adalah gula yang tidak permeabel membuat media hipertonic mengurangi kristalisasi intraseluler.

Tudung Akrosom Utuh

Hasil uji lanjut DMRT menunjukkan bahwa rataan persentase tudung akrosom utuh memperlihatkan pada spermatozoa sapi Simmental setelah pembekuan tertinggi ditemukan pada perlakuan 1,5% yaitu 65,500 %, 0% terendah yaitu 60,125%. Hasil penelitian ini meningkat dibandingkan dengan Syahminan *et al.* (2023) yang menunjukkan hasil persentase tudung akrosom utuh tertinggi adalah pada penambahan trehalosa yaitu 63%, dan yang paling rendah 59%.

Trehalosa pada sapi bahan pengencer dapat meningkatkan tudung akrosom utuh spermatozoa hingga 78% dan 69%, dan nilai tudung akrosom utuh pada penambahan trehalosa meningkat dibandingkan tanpa penambahan trehalosa (Iqbal *et al.*, 2016).

KESIMPULAN

Trehalosa pada pengencer tris kuning telur memberikan pengaruh yang sangat signifikan ($P > 0,01$). Analisis DMRT menunjukkan hasil signifikan ($P < 0,05$) terhadap motilitas, persentase spermatozoa hidup, membran plasma utuh, dan tudung akrosom utuh dan abnormalitas. Taraf penambahan trehalose pada pengencer tris kuning telur yang menunjukkan hasil terbaik pada kualitas

spermatozoa sapi 0.5% menunjukkan hasil terbaik pada kualitas spermatozoa sapi Simmental.

DAFTAR PUSTAKA

- Afriani, T., Y. M. Pela, E. Roza, A. Rastosari, and A. Farhana. 2022. Addition of Trehalose of Duck Egg Yolk-Tris as an Extender Medium on Buffalo Frozen Semen. In International Conference on Improving Tropical Animal Production for Food Security (ITAPS 2021). Atlantis Press. pp. 23-27
- Awang, M. T. L., Kaka, A., dan Umbu Pati, D. 2022. Kualitas spermatozoa sapi sumba ongole dalam pengencer tris kuning telur yang disimpan pada suhu ruang. Jurnal Peternakan Sabana.
- Badan Pusat Statistik Provinsi Sumatera Barat. 2022. Populasi Ternak (Ekor), 2020- 2022. URL:<https://sumbar.bps.go.id/indicator/24/55/1/populasi-ternak-.html>.
- El-Sheshtawy, R. I., G. A. Sisy, and W. S. El-Nattat. 2015. Effects of Different Concentrations of Sucrose or Trehalose on the Post-Thawing Quality of Cattle Bull Semen. Asian Pacific Journal of Reproduction. 4 (1) : 26-31.
- Fazrien, W. A., Herwijanti, E., dan Isnaini, N. 2020. Pengaruh perbedaan individu terhadap kualitas semen segar dan beku pejantan unggul sapi bali. Sains Peternakan. 18 (1):60–65. <https://doi.org/10.20961/sainspet.v%vi%i.37986>
- Hikmawan, S. W., Ciptadi, G., dan Wahyuningsih, S. 2016. Kualitas spermatozoa swim up kambing peranakan etawah hasil pembekuan menggunakan metode vitrifikasi dengan persentase gliserol yang berbed. Jurnal Ternak
- Iqbal, S., Naz, S., Ahmed, H., & Andrabi, S. M. H. (2018). Cryoprotectant effect of trehalose in extender on

- post-thaw quality and in vivo fertility of water buffalo (*Bubalus bubalis*) bull spermatozoa. *Andrologia*, 50(1), e12794.
- Iqbal, S., S. M. H. Andrabi, A. Riaz, A. Z. Durrani, and N. Ahmad. 2016. Trehalose Improves Semen Antioxidant Enzymes Activity, Post Thaw Quality, and Fertility in Nili Ravi Buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology*. 85 : 954– 959.
- Kumar, R., . K. Singh, S. Chhillar, and S. K. Atreja. 2013. Effect of Supplementation of Taurine or Trehalose in Extender on Immunolocalization of Tyrosine Phosphoproteins in Buffalo and Cattle (Karan Fries) Cryopreserved Spermatozoa. *Reproduction in Domestic Animals*. 48 (3) : 407-415.
- Oztürk, A. E., M. N. Bucak, M. Bodu, N. B. pınar, I. Çelik, Z. Shu, N. Keskin, and D. Gao. 2019. Cryobiology and Cryopreservation of Sperm. *Cryopreservation. Current Advances and Evaluations*. 2020.
- Peluffo, V., M. L. Armengol, V. Malcotti, A. Venturino, and E.G. Aisen. 2015. Effects of Glycerol and Sugar Mixing Temperature on the Morphologic and Functional Integrity of Cryopreserved Ram Sperm. *Theriogenology*. 83 : 144– 151.
- Putra, I., Syafrizal, dan Dianti, D. 2019. Pengaruh frekuensi pengambilan straw semen beku terhadap motilitas spermatozoa dan angka kebuntingan 10 inseminasi buatan sapi turunan simmental di kecamatan lintau buo utara. *Jurnal Embrio*. 11 (2):9–15.
- Silvia, H. 2019. Pengaruh Penambahan Trehalosa dalam Pengencer Tris Kuning Telur terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Brahman. Skripsi. Fakultas Peternakan. Universitas Andalas. Padang.
- Syahminan, A. T. P., Jaswandi, J., dan Afriani, T. 2023. Penambahan trehalose dalam pengencer tris kuning telur terhadap kualitas semen sapi pesisir. *Wahana Peternakan*. 7 (2):183–192. <https://doi.org/10.37090/jwputb.v7i2.1014>
- Tethool, A. N., Ciptadi, G., Wahjuningsih, S., dan Susilawati, T. 2022. Karakteristik dan jenis pengencer semen sapi bali: suatu review. *Jurnal Ilmu Peternakan Dan Veteriner Tropis (Journal of Tropical Animal and Veterinary Science)*. 12 (1):45–57. <https://doi.org/10.46549/jipvet.v12i1.214>
- Yendraliza, Y., Sitorus, A., Rodiallah, M., dan Zumarni, Z. 2023. Kualitas spermatozoa sapi simmental pada pengencer tris dengan kuning telur dan waktu equilibrasi yang berbeda. *Jurnal Agripet*. 23 (1):1–8. <https://doi.org/10.17969/agripet.v23i1.26381>
- Zaenuri, L. A., Rodiah, Dradjat, A. S., Sumadisa, I. W. L., HY, L., dan Yulian, E. 2023. Sosialisasi keuntungan inseminasi buatan pada sapi bali di kelompok peternak sapi desa sapit kecamatan suela kabupaten lombok timur. *Jurnal Pengabdian Magister Pendidikan IPA*. 6 (4):913–918. <https://doi.org/10.29303/jpmpi.v6i4.5515>