

Penambahan B-Karoten untuk Motilitas dan Daya Hidup Spermatozoa Anjing Kintamani yang Diencerkan Bovine Serum Albumin

Widodo Cipto Subagyo, Wayan Bebas, Made Kota Budiasa

Laboratorium Reproduksi Veteriner
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana.
Jl. P.B.Sudirman Denpasar Bali tlp, 0361-223791
Email : widodociptosubagyo@gmail.com

ABSTRAK

Anjing kintamani merupakan hewan peliharaan yang berfungsi sebagai hewan kesayangan, penjaga maupun peliharaan. Namun dalam usaha pembudidayaannya sering mengalami kesulitan, sehingga perlu diterapkan inseminasi buatan (IB). Walaupun demikian perlu diperhatikan bahwa kualitas semen yang diperoleh harus baik. Pada saat proses pengambilan, pengenceran dan penyimpanan semen berlangsung akan terjadi reaksi antara spermatozoa dengan oksigen yang akan menyebabkan radikal bebas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui penambahan β -karoten terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa anjing kintamani yang diencerkan dengan BSA kuning telur fosfat yang disimpan pada suhu 5°C . Penelitian ini menggunakan anjing jantan kintamani yang berumur 2,5 tahun. Setelah semen diambil dibuatkan pengencer kuning telur fosfat + BSA 1% dan β -karoten konsentrasi 0,001%, konsentrasi 0,002%, dan konsentrasi 0,003%. Pengencer BSA kuning telur fosfat tanpa campuran (sebagai kontrol) pengencer BSA kuning telur fosfat ditambah dengan etanol 0,05 ml (sebagai kontrol etanol). Selanjutnya semen anjing yang sudah di beri BSA kuning telur fosfat dan β -karoten disimpan pada suhu 5°C . Pemeriksaan motilitas dan daya hidup spermatozoa dilakukan setiap 12 jam selama 60 jam. Pemeriksaan motilitas dilakukan terhadap spermatozoa yang memiliki gerakan progresif dan pemeriksaan daya hidup dilakukan dengan pewarnaan eosin negrosin. Rataan hasil penelitian terhadap motilitas spermatozoa anjing kintamani dengan waktu pengamatan 0 jam, 12 jam, 24 jam, 36 jam, 48 jam, dan 60 jam. Pada kelompok T_0 adalah : $85,00 \pm 0,00\%$, $83,80 \pm 0,84\%$, $74,20 \pm 0,84\%$, $63,40 \pm 1,67\%$, $52,60 \pm 2,51\%$, $41,80 \pm 3,35\%$. Pada kelompok T_1 adalah : $85,00 \pm 0,00\%$, $83,80 \pm 0,45\%$, $74,40 \pm 1,14\%$, $63,60 \pm 1,95\%$, $52,80 \pm 2,78\%$, $42,00 \pm 3,61\%$. Pada kelompok T_2 adalah : $85,00 \pm 0,00\%$, $83,80 \pm 0,84\%$, $74,40 \pm 1,14\%$, $63,60 \pm 1,95\%$, $52,80 \pm 2,78\%$, $42,00 \pm 3,61\%$. Pada kelompok T_3 adalah : $85,00 \pm 0,00\%$, $84,40 \pm 0,55\%$, $76,00 \pm 0,71\%$, $66,40 \pm 1,52\%$, $56,80 \pm 2,39\%$, $47,20 \pm 3,27\%$, dan pada kelompok T_4 adalah : $85,00 \pm 0,00\%$, $83,00 \pm 1,73\%$, $75,40 \pm 0,89\%$, $65,20 \pm 1,30\%$, $55,00 \pm 1,73\%$, $45,00 \pm 2,24\%$. Rataan hasil penelitian terhadap daya hidup spermatozoa anjing kintamani dengan waktu pengamatan 0 jam, 12 jam, 24 jam, 36 jam, 48 jam, dan 60 jam. Pada kelompok T_0 adalah : $95,00 \pm 0,00\%$, $93,80 \pm 0,84\%$, $84,20 \pm 0,84\%$, $73,40 \pm 1,68\%$, $62,60 \pm 2,51\%$, $51,80 \pm 3,35\%$. Pada kelompok T_1 adalah : $95,00 \pm 0,00\%$, $93,80 \pm 0,45\%$, $84,40 \pm 1,14\%$, $73,60 \pm 1,95\%$, $62,80 \pm 2,78\%$, $52,00 \pm 3,61\%$. Pada kelompok T_2 adalah : $95,00 \pm 0,00\%$, $93,80 \pm 0,84\%$, $84,40 \pm 1,14\%$, $73,60 \pm 1,95\%$, $62,80 \pm 2,78\%$, $52,00 \pm 3,61\%$. Pada kelompok T_3 adalah : $95,00 \pm 0,00\%$, $94,40 \pm 0,55\%$, $86,00 \pm 0,71\%$, $76,40 \pm 1,52\%$, $66,80 \pm 2,39\%$, $57,20 \pm 3,27\%$, dan pada kelompok T_4 adalah : $95,00 \pm 0,00\%$, $93,00 \pm 1,73\%$, $85,40 \pm 0,89\%$, $75,20 \pm 1,30\%$, $65,00 \pm 1,73\%$, $54,80 \pm 2,17\%$. Analisis dan pengujian statistik dilakukan dengan *General Linear Model (Multivariate)*, hasil pengujian statistik menunjukkan bahwa penambahan β -karoten memberikan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa anjing kintamani yang diencerkan dengan BSA kuning telur fosfat yang disimpan pada suhu 5°C . Uji lanjutan dengan uji Duncan diperoleh bahwa penambahan β -karoten dengan konsentrasi 0,002% memberikan hasil rata-rata motilitas dan daya hidup spermatozoa anjing kintamani yang nyata ($P < 0,05$) lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok T_0 , T_1 , T_2 dan T_4 .

Kata kunci : B-karoten, BSA, dan Spermatozoa Anjing Kintamani.

PENDAHULUAN

Dalam penerapan inseminasi buatan kualitas semen harus tetap dipertahankan sampai semen tersebut diinseminasikan. Beberapa faktor yang berpengaruh terhadap kualitas semen adalah sifat-sifat fisik dan kimia bahan pengencer (pH, tekanan osmose, elektrolit yang terkandung), kadar pengencer, cahaya, suhu, dan lama penyimpanan (Toelihere, 1981).

Kedalam bahan pengencer tersebut biasanya ditambahkan kuning telur untuk melindungi spermatozoa dari kejutan dingin (*cold shock*) selama penyimpanan (Tsutsui *et al.* 2003a). Andromed® merupakan salah satu pengencer komersial berbahan dasar tris yang tidak menggunakan sumber protein asal hewan yang menjadi andalan untuk pengencer semen beku sapi (Minitub 2001).

Menurut Pryor, *et al.*, (2002) β -karoten merupakan salah satu senyawa yang memiliki kemampuan kerja sebagai senyawa antioksidan yang baik. β -karoten mengandung pigmen merah dan oranye yang berwarna sangat berlimpah pada tanaman dan buah-buahan. Berdasarkan hasil penelitian, penambahan sebanyak 0,002% β -karoten di dalam pengencer tris merupakan dosis optimal dalam meningkatkan kualitas semen beku domba garut (Rizal, 2005).

β -karoten mempunyai peranan mencegah timbulnya reaksi peroksidasi lipida yang berlebihan pada membran plasma sel spermatozoa yang ditimbulkan oleh radikal bebas dan senyawa oksidannya. Menurut Suryohudoyo (2000) radikal bebas hidroksil dan singlet oksigen dapat merusak tiga jenis senyawa yang penting untuk mempertahankan integritas sel. Ketiga senyawa itu adalah asam lemak, dan protein. Menurut Oshima, *et al.*, (1993) β -karoten memiliki kemampuan memproteksi liposom (suatu vesikel yang memiliki fosfolipida bilayer tunggal) dari kerusakan akibat serangan singlet oksigen.

Belakangan ini untuk mempertahankan agar kualitas semen tetap baik selama proses penyimpanan banyak peneliti menambahkan BSA (bovine Serum Albumin) kedalam pengencer (Gadea, 2003; Yamashiro, *et al.*, 2006). Hal ini sering digunakan sebagai standar konsentrasi protein (wikipedia 2011). Serum albumin merupakan salah satu protein yang banyak diteliti dan yang mempunyai kandungan protein yang banyak diteliti dan yang mempunyai kandungan protein plasma dengan konsentrasi 5gr/500ml.

Bakst and Cecil (1992) telah membuktikan penambahan BSA (*Bovine Serum Albumin*) pada pengenceran yang dipakai untuk mengencerkan semen kalkun yang disimpan pada suhu 7°C dapat meningkatkan motilitas spermatozoa jika dibandingkan dengan pengenceran tanpa BSA. Penelitian dilakukan Yamashiro, *et al.*, (2006) mengatakan bahwa penambahan BSA

5% pada semen kambing yang telah diencerkan menghasilkan motilitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan semen tanpa BSA. Untuk mengetahui penambahan β -karotein terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa anjing kintamani yang diencerkan dengan BSA kuning telur fosfat yang disimpan pada suhu 5⁰C.

METODE PENELITIAN

Semen diambil dari Seekor anjing jantan kintamani \pm 2,5 tahun dengan berat badan \pm 15 kg. Pakan yang diberikan selama penelitian yaitu makanan komersial (Pedegree®). Obat-obatan yang digunakan adalah antibiotika Streptomisin® (Meiji Indonesia). Peralatan yang digunakan pada penelitian antara lain : tabung reaksi, rak tabung reaksi, gelas beker, kulkas, kertas saring, kompor listrik, timbangan analitik, batang gelas pengaduk, api bunsen, coverglass, objek glass, mikroskop (binokular), cawan petri, pipet pasture, haemocytometer, dan gunting. Bahan-bahan yang digunakan antara lain : BSA (*Bovine Serum Albumin*), β -karotein, kuning telur, aquadestilata, etanol, PBS (*Phosphate Buffer Saline*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian motilitas dan daya hidup spermatozoa anjing kintamani pada pengencer kuning telur fosfat dengan penambahan β -karoten yang disimpan pada suhu 5⁰C dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel : Motilitas dan daya hidup spermatozoa anjing kintamani

Perlakuan	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄
0 Jam	85,00 \pm 0,00				
12 Jam	83,80 \pm 0,84	83,80 \pm 0,45	83,80 \pm 0,84	84,40 \pm 0,55	83,00 \pm 1,73
24 Jam	74,20 \pm 0,84	74,40 \pm 1,14	74,40 \pm 1,14	76,00 \pm 0,71	75,40 \pm 0,89
36 Jam	63,40 \pm 1,67	63,60 \pm 1,95	63,60 \pm 1,95	66,40 \pm 1,52	65,20 \pm 1,30
48 Jam	52,60 \pm 2,51	52,80 \pm 2,78	52,80 \pm 2,78	56,80 \pm 2,39	55,00 \pm 1,73
60 Jam	41,80 \pm 3,35	42,00 \pm 3,61	42,00 \pm 3,61	47,20 \pm 3,27	45,00 \pm 2,24
0 Jam	95,00 \pm 0,00				
12 Jam	93,80 \pm 0,84	93,80 \pm 0,45	93,80 \pm 0,84	94,40 \pm 0,55	93,00 \pm 1,73
24 Jam	84,20 \pm 0,84	84,40 \pm 1,14	84,40 \pm 1,14	86,00 \pm 0,71	85,40 \pm 0,89
36 Jam	73,40 \pm 1,68	73,60 \pm 1,95	73,60 \pm 1,95	76,40 \pm 1,52	75,20 \pm 1,30
48 Jam	62,60 \pm 2,51	62,80 \pm 2,78	62,80 \pm 2,78	66,80 \pm 2,39	65,00 \pm 1,73
60 Jam	51,80 \pm 3,35	52,00 \pm 3,61	52,00 \pm 3,61	57,20 \pm 3,27	54,80 \pm 2,17

Keterangan : T₀ : control,
T₁ : kontrol etanol
T₂ : konsentrasi β-karoten 0,001%
T₃ : konsentrasi β-karoten 0,002%
T₄ : konsentrasi β-karoten 0,003%

Pembahasan

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa penambahan β-karoten secara nyata ($P < 0,05$) dapat mempertahankan motilitas dan daya hidup spermatozoa anjing kintamani yang diencerkan dengan BSA kuning telur fosfat yang disimpan pada suhu 5⁰C. Pada saat proses pengambilan, pengenceran dan penyimpanan semen berlangsung akan terjadi reaksi antara spermatozoa dengan oksigen yang akan menyebabkan terbentuknya radikal bebas. Radikal bebas yang terbentuk akan memicu terjadinya peroksidasi lemak sehingga akan menurunkan motilitas dan daya hidup spermatozoa (Sikka, 1996). Pada kondisi kurang menguntungkan inilah β-karoten sebagai antioksidan memainkan peranan mencegah timbulnya peroksidasi lipid yang berlebihan pada membran plasma sel yang ditimbulkan oleh radikal bebas atau senyawa oksidan lain. β-karoten merupakan salah satu senyawa antioksidan yang larut dalam lemak dan bekerja memutus rantai peroksidasi lipida membran plasma (Suryohudoyo, 2000). β-karoten memiliki kemampuan memproteksi liposom (suatu vesikel yang memiliki fosfolipida bilayer tunggal) dari kerusakan akibat serangan singlet oksigen (Oshima et al., 1993).

Setelah dilanjutkan dengan uji Duncan, perlakuan Penambahan T₃ menunjukkan motilitas dan daya hidup spermatozoa anjing kintamani yang diencerkan dengan BSA kuning telur fosfat yang disimpan pada 5⁰C nyata lebih tinggi ($P < 0,005$) dibandingkan T₀, T₁, T₂, T₄. T₀ tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) terhadap T₁, hal ini membuktikan bahwa dosis etanol sebanyak 0,05 ml tidak memberikan pengaruh yang buruk terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa anjing kintamani dan dapat diadaptasi oleh spermatozoa anjing kintamani.

Pemakaian T₃ merupakan dosis yang paling tepat untuk mempertahankan motilitas dan daya hidup spermatozoa anjing kintamani dibandingkan dengan T₀, T₁, T₂, T₄. Karena pada T₃ sudah dapat bekerja secara optimal memberikan perlindungan spermatozoa dengan cara mencegah atau memutus reaksi rantai peroksidasi lipida pada membran plasma sel. Sehingga mampu mencegah atau mengurangi kerusakan yang terjadi pada membran plasma sel spermatozoa selama proses penyimpanan. Membran plasma yang utuh akan menyebabkan proses metabolisme dapat berjalan dengan baik, sehingga produksi energi baik maupun ATP

tidak terganggu sehingga motilitas dan daya hidup spermatozoa dapat dipertahankan (Rijal, 2005).

Untuk penambahan β -karoten hasil terbaik diperoleh dari T₃. Pada T₂ terjadi penurunan terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa, hal ini kemungkinan disebabkan karena antioksidan pada konsentrasi tersebut belum mencukupi untuk mencegah terjadinya peroksidasi lemak. Sedangkan pada T₄ juga terjadi penurunan motilitas dan daya hidup spermatozoa, hal ini diduga karena penambahan senyawa antioksidan dalam jumlah banyak akan semakin meningkatkan tekanan osmotik larutan pengencer dan kurang dapat diadaptasi dengan baik oleh spermatozoa sehingga berakibat buruk terhadap berlangsungnya proses metabolisme spermatozoa. Menurut Schweigert dan Zucker (1988) yang menyatakan bahwa kandungan β -karoten di dalam sel cukup rendah, dan dapat bersifat toksik jika konsentrasinya berlebihan.

SIMPULAN

Penambahan β -karoten memberikan perbedaan yang nyata terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa anjing kintamani yang diencerkan dengan BSA kuning telur fosfat yang disimpan pada suhu 5⁰C. Motilitas dan daya hidup spermatozoa pada penambahan β -Karoten yang terbaik terdapat pada konsentrasi 0,002%. Lama waktu pengamatan penyimpanan menunjukkan hasil yang berbeda nyata terhadap penurunan motilitas dan daya hidup spermatozoa anjing kintamani dengan penambahan β -karoten dan pengencer bsa kuning telur fosfat yang disimpan 5⁰C.

SARAN

Dari kesimpulan diatas maka dapat disarankan perlu penelitian lebih lanjut untuk menguji fertilitas pada anjing.

DAFTAR PUSTAKA

- Gadea, J (2003). Pig Industry-semen Extenders Used in the Artificial Insemination of Swine. A Review. Spanish Journal of Agricultural Research, 1 (27):17-27
- Minitub. 2001. Certificate Andromed. Minitub Abfullund Labortechnik GmbH &Co KG. Germany.
- Oshima SF., Ojima H., Sakamoto Y. Ishiguro, Terao J.. 1993. Inhibitory Effect of B-Carotene and Asthaxanthin on Photosensitized Oxidation of Phospholipid Bilayers. J.Nur.Sci Vitaminol. 39:607-615.

- Pryor WA., Stahl W., Roch CL. 2000. B-carotene From Biochemistry to Clinical Trials. *Nutr.Rev.*58:39-53.
- Rizal M. 2005. Efektivitas Berbagai Konsentrasi β -Karoten terhadap Kualitas Semen Beku Domba Garut. *Animal Production*, Vol.7, No. 1 Januari 2005:6-13.
- Sikka, Suresh C. 1996. Oksidative Stress and Role of Antioksidants In Normal and Abnormal Sperm Function. Available from : www.bioscience.org.
- Suryohudoyo P. 2000. *Kapita Selekta Ilmu Kedokteran Molekuler*. Jakarta. C.V Sagung Seto, hal : 31 – 47.
- Toelihere, M.R. 1993. *Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Penerbit Angkasa Bandung, Bandung.
- Tsutsui T, T. Tezuka, Y. Mikasa, H. Sugisawa, N. Kirihara, T. Hori, and E. Kawakami. 2003a. Artificial insemination with canine semen stored at a low temperature. *J.*
- Wikipedia, 2011. Bovine serum albumin.<http://www.scribd.com/doc/52315216/set7-jitv141-awicaksono2009>). Diakses tgl 2 Januari 2012.
- Yamashiro, H., H. Wang, Y. Yamashita, K. Kumamoto, and T.Terada. 2006. Enhanced Freezability of Goat Spermatozoa Collected into Tubes Containing Extender Supplemented with Bovine Serum Albumin (BSA). *Journal of Reproduksi and Development*. 52:407-414.