

Penambahan Bovine Serum Albumin pada Pengencer Beltsville Thawing Solution terhadap Motilitas dan Daya Hidup Spermatozoa Babi Landrace

(THE ADDITION OF BOVINE SERUM ALBUMIN TO BELTSVILLE THAWING SOLUTION DILUENTS AGAINST MOTILITY AND VITALITY OF LANDRACE PIGS SPERMATOZOA)

I Made Agus Suryanatha^{1*}, Wayan Bebas², Desak Nyoman Dewi Indira Laksmi²

¹Dokter Hewan Praktik di Kabupaten Gianyar, Bali, Indonesia 80511;

²Laboratorium Reproduksi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. PB Sudirman Denpasar, Bali, Indonesia 80225.

*Email: suryanathaagus@yahoo.co.id

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan berbagai konsentrasi *bovine serum albumin* (BSA) pada pengencer *beltsville thawing solution* (BTS)[®] dalam mempertahankan daya hidup dan motilitas spermatozoa babi Landrace. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan yaitu T0 (kontrol): yang diberikan BTS[®] tanpa BSA, T1: yang diberikan BTS[®] ditambahkan BSA 5 mg/ml, T2: yang diberikan BTS[®] ditambahkan BSA 10 mg/ml dan T3: yang diberikan BTS[®] ditambahkan BSA 20 mg/ml. Setiap kombinasi perlakuan, diulang sebanyak lima kali, sehingga jumlah total sampel yang digunakan sebanyak 20 sampel. Variabel yang diukur dalam penelitian ini adalah daya hidup dan motilitas semen. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan BSA pada pengencer BTS[®] dapat meningkatkan daya hidup dan motilitas spermatozoa babi Landrace. Konsentrasi yang optimal adalah 10 mg/ml dalam menjaga kestabilan dan menjaga tekanan osmosisnya agar tetap stabil.

Kata kunci: Bovine serum Albumin; Beltsville thawing solution; babi; pengencer; spermatozoa.

ABSTRACT

This study aims to determine the effect of the addition of various *bovine serum albumin* (BSA) concentrations on *beltsville thawing solution* (BTS)[®] extender to maintaining vitality and motility of spermatozoa on Landrace pigs. This study used Completely Randomized Design (CRD) with four treatments namely T0 (control): were given BTS[®] without BSA, T1: were given BTS[®] added BSA 5 mg/ml, T2: were given BTS[®] added BSA 10 mg/ml and T3: were given BTS[®] added BSA 20 mg/ml. Each treatment combination was repeated five times, with the total sample used was 20 samples. The measured variables in this study were the vitality and motility of Landrace pig semen. The results showed that the addition of BSA to BTS[®] diluents could increase the vitality and motility of spermatozoa on Landrace pigs. Where the optimal concentration was 10 mg/ml in keeping stability and maintaining the osmosis pressure stable.

Keywords: Bovine Serum Albumin; Beltsville Thawing Solution; pig; extender; spermatozoa.

PENDAHULUAN

Daging merupakan sumber protein hewani yang bermutu tinggi dan dikonsumsi oleh masyarakat untuk memenuhi kebutuhan asam amino esensial tubuh. Daya beli konsumen yang meningkat mempengaruhi konsumen untuk memilih daging yang bermutu. Daging

yang banyak dikonsumsi di Indonesia adalah daging ayam, sapi, domba, kambing dan babi (Agustina *et al.*, 2017^a). Perkembangan produksi daging babi di Indonesia sejalan dengan tingkat perkembangan populasinya, dalam periode tahun 1990-1999 rata-rata produksi babi di Indonesia sebesar 152,4 ribu ton dengan peningkatan rata-rata 2,40 persen per tahun

(Agustina *et al.*, 2017^b). Dilihat dari aspek produksi, ternyata Propinsi Bali menduduki urutan pertama. Daging babi terutama di Bali sangat diminati karena memiliki cita rasa yang enak disamping juga untuk keperluan upacara agama Hindu (Agustina *et al.*, 2016^a; 2016^b). Pertambahan penduduk di Bali yang semakin meningkat tiap tahunnya menyebabkan konsumsi daging babi juga semakin meningkat. Oleh sebab itu pemotongan ternak babi di Bali setiap tahunnya terus mengalami peningkatan (Agustina *et al.*, 2016^a; Kariyasa, 2016).

Sejalan dengan upaya untuk meningkatkan mutu dan populasi maka penggunaan akan inseminasi buatan pada babi di masyarakat juga semakin banyak. Pengetahuan masyarakat dibidang peternakan babi sudah semakin maju dan dapat merasakan keuntungan dari penggunaan inseminasi buatan (IB) dalam meningkatkan efisiensi reproduksi ternak (Glossop, 2001).

Menurut The'rien *et al.* (1999), saat ini dalam upaya pelayanan IB pada babi, inseminator di desa masih menggunakan semen segar yaitu semen yang ditampung dari pejantan unggul yang ditempatkan dalam botol kemudian dibawa kelapangan untuk pelayanan IB. Penggunaan semen segar tanpa proses pengenceran mempunyai banyak kelemahan. Semen segar cepat sekali mengalami penurunan kualitas seperti: paparan yang terus menerus protein plasma semen dengan spermatozoa. Keadaan ini dapat merusak membran plasma spermatozoa serta penurunan motilitas dan daya hidup spermatozoa. Hal ini terjadi karena plasma semen segar babi mengandung protein yang dapat menimbulkan pengaruh buruk terhadap membran plasma sel spermatozoa akibat bereaksi dengan lipid penyusun membran plasma sel.

Semen babi mengandung spermatozoa yang mempunyai komposisi membran plasma yang berbeda dibanding ternak lainnya yaitu memiliki *sphingomyelin* dan *phosphatidylethanolamine* yang sangat

tinggi hingga mencapai 14% dan 24%. Kondisi ini menyebabkan mudah mengalami serangan *cold shock* (Paulenz *et al.*, 2000). Oleh karena itu penambahan bahan pengencer yang tepat akan menjaga kualitas spermatozoa dari serangan *cold shock*.

Pengencer *Beltsville Thawing Solution* (BTS[®]) adalah bahan pengencer berdaya simpan 1-3 hari (Gadea, 2003). Dilihat dari komposisinya, BTS[®] belum mempunyai kandungan bahan yang mampu memproteksi sel spermatozoa terhadap serangan radikal bebas yang sering juga disebut *Reactive Oxygen Species* (ROS). Terbetuknya ROS dari aktivitas metabolisme sel selama prosesing semen itu berlangsung (Chatterjee *et al.*, 2001).

Bovine Serum Albumin (BSA) merupakan salah satu protein yang mempunyai kandungan protein yang berlimpah dalam plasma dengan konsentrasi 5g/500 ml. Di samping itu, BSA mempunyai komposisi asam amino sebanyak 20 macam (Friedli, 2006). Dengan penambahan berbagai konsentrasi BSA pada bahan pengencer kandungan asam amino atau plasma protein pada semen yang telah diencerkan diharapkan mampu mensubstitusi penurunan konsentrasi berbagai bahan yang terdapat di dalam plasma semen akibat proses pengenceran, sehingga dapat menjaga stabilitas membran sel spermatozoa (Gadea, 2003).

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh penambahan berbagai konsentrasi BSA pada pengencer BTS[®] dalam mempertahankan daya hidup dan motilitas spermatozoa babi Landrace. Sehingga ketersediaan semen dapat terpenuhi setiap saat, dalam upaya peningkatan mutu dan populasi ternak babi untuk menunjang program pemerintah dalam memenuhi kebutuhan daging nasional.

METODE PENELITIAN

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah satu ekor babi jantan

jenis Landrace dengan umur ± 2 tahun sebagai sampel. Langkah yang pertama dilakukan yaitu membuat pengencer BTS[®]. Pengencer BTS[®] dibuat dengan cara melarutkan serbuk BTS[®] (50 gram) yang dimasukkan ke tabung Erlenmeyer yang berisi 1.000 mililiter aqua destilata, digoyang-goyangkan sampai homogen, kemudian dimasukkan ke inkubator dengan suhu 37°C selama 15 menit. Kemudian dilanjutkan membuat perlakuan yaitu membuat BSA Pembuatan T₁ dengan cara menambahkan konsentrasi BSA 5mg/ml kedalam pengencer BTS[®], kemudian T₂ dengan cara menambahkan konsentrasi BSA 10 mg/ml kedalam pengencer BTS[®] dan T₃ menambahkan konsentrasi BSA 20mg/ml kedalam pengencer BTS[®]. Teknik penampungan semen dilakukan dengan menggunakan metode *massage* (pijatan). Penampungan semen dilakukan dengan cara memasukan babi jantan ke ruangan yang di dalamnya terdapat *dummy* (betina buatan yang digunakan untuk pengambilan semen). Babi dibiarkan menggosokkan badannya pada *dummy*. Setelah pejantan naik ke *dummy*, dilakukan metode pijatan jika gland penisnya sudah keluar, penis dipegang dengan menggunakan tiga jari dan dua jari tangan lainnya untuk merangsang ujung penis. Pada saat penis telah ereksi maksimal, pejantan akan mengeluarkan semen. Cairan bening yang pertama keluar harus dibuang karena tidak mengandung sperma (fraksi pertama), kemudian jika sudah terlihat cairan berwarna putih (fraksi kedua) baru kemudian semen ditampung di dalam tabung yang sudah dimodifikasi yang di dalamnya terdapat tabung Erlenmeyer, cerobong air, kain kasa dan karet. Pemeriksaan semen dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Penilaian semen secara makroskopis meliputi volume, bau, warna, konsistensi, derajat keasaman (pH) semen. Sedangkan secara mikroskopis yaitu motilitas, abnormalitas, dan konsentrasi spermatozoa. Menghitung konsentrasi spermatozoa dengan

menggunakan haemocytometer, caranya seperti menghitung sel darah merah (eritrosit). Kotak arah diagonal atau empat kotak ditiap sudut dan satu kotak ditengah, hasil perhitungan tersebut dikalikan dengan 10 juta sama dengan konsentrasi spermatozoa per ml pengenceran semen dilakukan dengan memasukkan semen kedalam bahan pengencer BTS[®]. Dengan satu dosis IB mempunyai konsentrasi spermatozoa 3×10^9 dalam 80 ml. Dalam penelitian ini, semen yang telah diencerkan disimpan di *ice pack* selama 72 jam. Pengamatan terhadap daya hidup spermatozoa dilakukan dengan menggunakan pewarnaan eosin negrosin sitrat. Sampel diambil 1 tetes (0,05 ml) yang diteteskan pada *object glass* kemudian ditambah eosin negrosin sitrat 2 tetes selanjutnya dibuat preparat hapusan dan diangin-anginkan sampai kering, kemudian preparat diperiksa di bawah mikroskop untuk menghitung jumlah spermatozoa yang masih utuh beserta membran plasma utuhnya. Penilaian dilakukan dengan system skor 0% sampai 100% (Toelihere, 1993). Presentase hidup (%) adalah presentase spermatozoa yang hidup dihitung dan dievaluasi menggunakan zat pewarna eosin negrosin sitrat. Spermatozoa yang hidup tidak berwarna, sedangkan yang mati akan berwarna merah. Pemeriksaan persentase motilitas spermatozoa yaitu dengan cara mengambil semen yang telah diencerkan yang diambil menggunakan spuit dan diletakkan pada *object glass* kemudian ditutup dengan *cover glass* dan diamati dengan mikroskop dengan perbesaran 400x untuk menghitung persentase jumlah spermatozoa yang bergerak progresif.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan yaitu T₀: dengan menggunakan pengencer BTS[®] tanpa BSA, T₁: pengencer BTS[®] ditambah BSA 5 mg/ml, T₂: pengencer BTS[®] ditambah BSA 10 mg/ml, T₃: pengencer BTS[®] ditambah BSA 20 mg/ml.

Setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak lima kali, sehingga jumlah total sampel yang digunakan sebanyak 20 sampel. Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini berupadaya hidup dan motilitas semen babi Landrace yang dilakukan selama 72 jam dimulai saat penyimpanan. Penelitian ini dilakukan di sentra pembibitan Baturiti, Tabanan dan di Laboratorium Reproduksi Veteriner

Tabel 1. Hasil pemeriksaan mikroskopis dan makroskopis semen segar babi Landrace.

Kualitas semen babi Landrace		
Pemeriksaan makroskopis	Kekentalan semen	Normal
	Warna semen	Putih krem
	Volume semen (ml)	170
	Keasaaman/Ph	7
	Bau	Khas semen babi
Pemeriksaan mikroskopis	Gerakan massa	+++
	Konsentrasi (10^6 /ml)	790
	Pergerakan progresif (%)	85 P
	Spermatozoa hidup (%)	96
	Abnormalitas spermatozoa (%)	4,0

Keterangan: +++: Gerakan gelombang massa baik; P: Gerakan individu sperma maju dan cepat.

Tabel 2. Rerata daya hidup spermatozoa babi Landrace yang disimpan selama 72 jam.

Perlakuan	Rerata \pm SD
T0	89,40 \pm 1,140 ^b
T1	92,60 \pm 1,140 ^c
T2	94,60 \pm 0,548 ^d
T3	86,00 \pm 1,000 ^a

Keterangan: Huruf superskrip yang berbeda menyatakan perbedaan nyata taraf $P < 0,05$

Penambahan konsentrasi BSA 5 mg/ml, 10 mg/ml dan 20 mg/ml kedalam pengencer BTS[®] berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap daya hidup dan motilitas spermatozoa babi Landrace. Hasil analisis daya hidup spermatozoa babi Landrace yang diberi perlakuan penambahan konsentrasi BSA 5 mg/ml, 10 mg/ml dan 20 mg/ml kedalam pengencer BTS[®] selama 72 jam disajikan pada Tabel 2. Dimana perlakuan T0 mempunyai daya hidup spermatozoa yang lebih rendah ($P < 0,05$) dari T1, T2, dan daya hidup spermatozoa yang lebih tinggi dari T3. Perlakuan T1 memiliki daya hidup lebih rendah ($P < 0,05$)

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana pada bulan Mei 2018.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan mikroskopis dan makroskopis semen segar babi Landrace tampak pada Tabel 1. Hasil pemeriksaan semen segar babi Landrace secara makroskopis dan mikroskopis layak digunakan dan diproses lebih lanjut untuk proses pengenceran.

dengan T2 dan daya hidup spermatozoa lebih tinggi dari T0 dan T3. Perlakuan T2 daya hidup spermatozoa lebih tinggi ($P < 0,05$) dibandingkan dengan T0, T1, dan T3. Perlakuan T3 daya hidup spermatozoa lebih rendah ($P < 0,05$) dari T0, T1, dan T2.

Tabel 3. Rerata motilitas spermatozoa babi Landrace yang disimpan selama 72 jam.

Perlakuan	Rerata \pm SD
T0	39,80 \pm 1,643 ^b
T1	41,80 \pm 1,304 ^b
T2	46,80 \pm 1,304 ^c
T3	17,80 \pm 1,924 ^a

Keterangan: Huruf superskrip yang berbeda menyatakan perbedaan nyata taraf $P < 0,05$

Hasil analisis pemeriksaan motilitas spermatozoa babi Landrace masing-masing perlakuan yang diberi perlakuan penambahan konsentrasi BSA 5 mg/ml, 10 mg/ml dan 20 mg/ml kedalam pengencer BTS[®] selama 72 jam disajikan pada Tabel 3. Dimana perlakuan T0 mempunyai daya hidup spermatozoa yang lebih rendah ($P < 0,05$) dari T1, T2, dan daya hidup

spermatozoa yang lebih tinggi dari T3. Perlakuan T1 memiliki daya hidup lebih rendah ($P < 0,05$) dengan T2 dan daya hidup spermatozoa lebih tinggi dari T0 dan T3. Perlakuan T2 daya hidup spermatozoa lebih tinggi ($P < 0,05$) dibandingkan dengan T0, T1, dan T3. Perlakuan T3 daya hidup spermatozoa lebih rendah ($P < 0,05$) dari T0, T1, dan T2.

Pada perlakuan T2 yaitu penambahan BSA 10 mg/ml kedalam pengencer BTS[®] selama 72 jam memiliki daya hidup dan motilitas spermatozoa yang paling tinggi. Hal ini terjadi karena penambahan BSA sebanyak 10 mg/ml merupakan konsentrasi yang efektif. Konsentrasi pengencer yang efektif dapat membantu menjaga kestabilan spermatozoa dan menjaga tekanan osmosisnya agar tetap stabil (Gadea, 2003). Demikian pula, pada perlakuan T1 yaitu penambahan BSA 5 mg/ml kedalam pengencer BTS[®] selama 72 jam masih dapat meningkatkan daya hidup dan motilitas spermatozoa babi Landrace. Hal ini dikarenakan tekanan osmosis sel masih stabil, sehingga dapat menjaga stabilitas spermatozoa akan tetapi masih belum efektif. Sedangkan penambahan BSA pada konsentrasi 20 mg/ml memiliki pengaruh nyata ($P < 0,05$) dalam menurunkan daya hidup dan motilitas spermatozoa babi Landrace. Hal ini disebabkan penambahan 20 mg/ml BSA pada pengencer BTS[®] adalah konsentrasi BSA yang tinggi yang dapat menyebabkan osmolaritas sel tinggi sehingga larutan berubah menjadi Hipertonik.

Penambahan BSA memiliki fungsi sebagai antioksidan dan krioprotektan sehingga mampu mensubstitusi penurunan konsentrasi berbagai bahan yang terkandung dalam plasma semen selama proses pengenceran, sehingga dapat menjaga stabilitas membran sel semen (Gadea, 2003). Akan tetapi jika penambahan BSA dengan konsentrasi yang lebih tinggi akan menyebabkan osmolaritas selnya tinggi sehingga larutan berubah menjadi hipertonik.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa penambahan konsentrasi BSA pada pengencer BTS[®] berpengaruh nyata dalam mempertahankan daya hidup dan motilitas spermatozoa babi Landrace, dimana konsentrasi yang terbaik adalah 10mg/ml.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui fertilitas semen yang disimpan menggunakan pengencer BTS[®] dengan penambahan BSA dengan konsentrasi 10mg/ml.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada dosen pembimbing, serta pembibitan Baturiti, Tabanan dan Laboratorium Reproduksi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana yang telah memfasilitasi penelitian ini serta keluarga maupun teman-teman yang telah membantu dalam proses penulisan dan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina KK, Wirata IW, Dharmayudha AAGO, Kardena IM, Dharmawan NS. 2016^a. Increasing farmer income by improved pig management systems. *Bul. Vet. Udayana*. 8: 122–127.
- Agustina KK., Dharmayudha AAGO, Oka IBM, Dwinata IM, Kardena IM, Dharmawan NS, Damriyasa IM. 2016^b. Case of entamoebiasis in pigs raised with a free range systems in Bali, Indonesia. *J. Vet*. 17: 570–575.
- Agustina KK, Sari PH, Suada IK. 2017^a. Pengaruh perendaman pada infusa daun salam terhadap kualitas dan daya tahan daging babi. *Bul. Vet. Udayana*. 9(1): 34-41.
- Agustina KK, Swacita IBN, Oka IBM, Dwinata IM, Traub RJ, Cargill C, Damriyasa IM. 2017. Reducing zoonotic and internal parasite burdens

- in pigs using a pig confinement system. *Vet. World.* 10(11): 1347-1352.
- Chatterjee S, De Lamirande E, Gagnon. 2001. Cryopreservation alters membrane sulfhydryl status of bull spermatozoa: Protection by oxidized glutathione. *Mol. Reprod. Dev.* 60: 498-506.
- Friedli GL. 2006. Interaction Of SWP With Bovine Serum Albumin (BSA) <http://www.friedli.com/research/PhD/chapter5.html> (Tanggal akses 20 April 2011)
- Gadea J. 2003. Pig industry-semen extenders used in the artificial insemination of swine. A review. *Spanish J. Agric. Res.* 1(27): 17-27.
- Glossop CE. 2001. *AI and its influence on production efficiency, pork-production agricultural and food.* Malmesbury, Wiltshire, England.
- Kariyasa. 2016. Analisis penawaran dan permintaan serta potensi ekspor daging babi di Indonesia. <http://media.neliti.com/media/publications/43906-ID-analisis-penawaran-dan-permintaan=daging-sapi-di-indonesia-sebelum-dan-saat-kris.pdf> (Tanggal akses 2 April 2018)
- Paulenz H, Kommissrud E, Hofmo PO. 2000. Effect of long-term storage at different temperatures on the quality of liquid boar semen. *Reprod. Dom. Anim.* 35: 83-85.
- The´rien I, Moreau R, Manjunath P. 1999. Major proteins of bovine seminal plasma and high-density lipoprotein induce cholesterol efflux from epididymal sperm. *Biol. Reprod.* 59: 768-776.