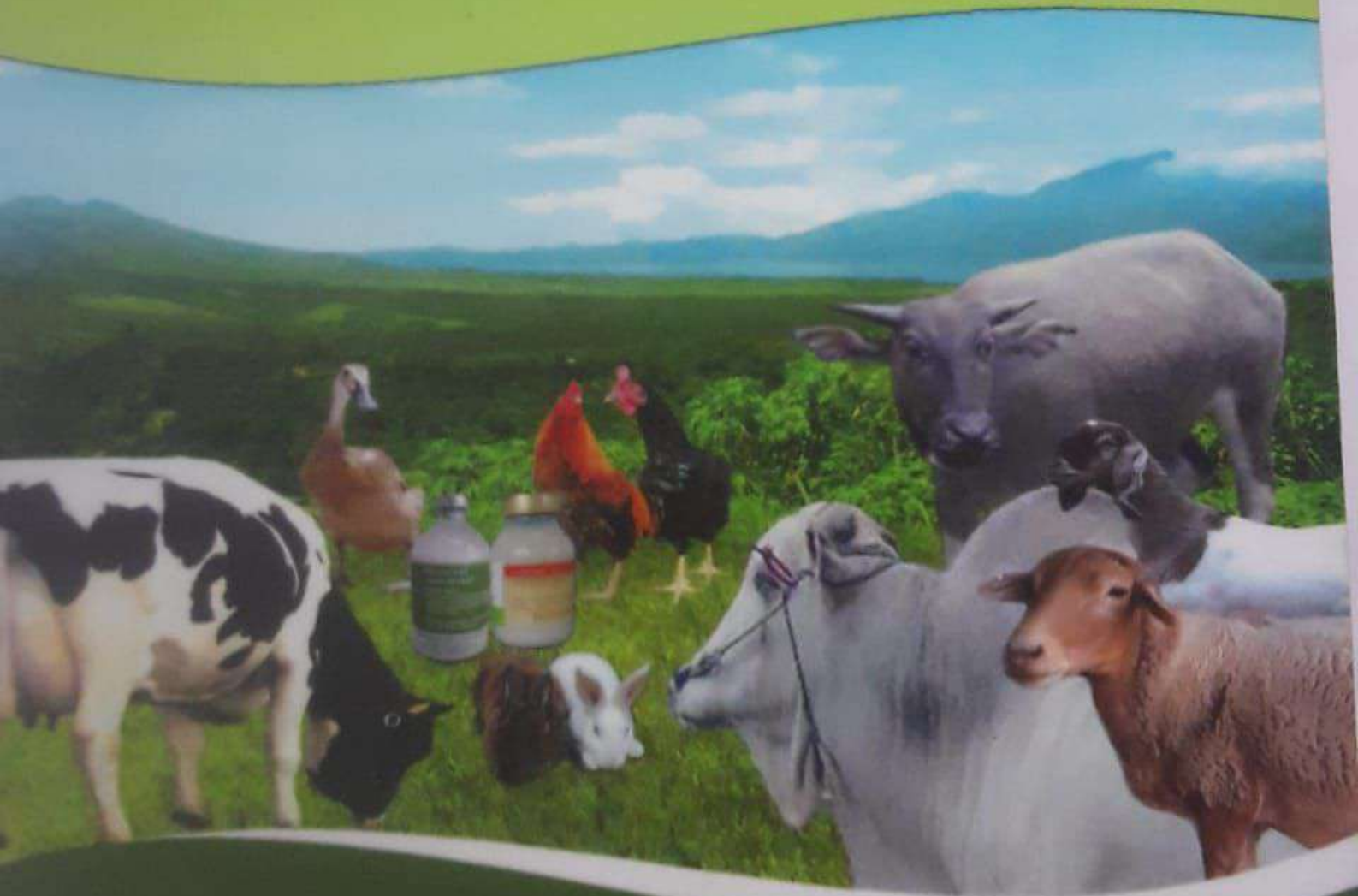


PROSIDING

SEMINAR NASIONAL TEKNOLOGI PETERNAKAN DAN VETERINER

Medan, 3 - 5 September 2013



BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN PERTANIAN
KEMENTERIAN PERTANIAN



2.1

Prosiding

Seminar Nasional

Teknologi Peternakan dan Veteriner

"Inovasi Teknologi Peternakan dan Veteriner
Berbasis Sumber Daya Lokal yang Adaptif dan
Mitigatif terhadap Perubahan Iklim"

Medan, 3-5 September 2013

Cetakan 2013

Hak Cipta dilindungi Undang-undang
©JAARD Press, 2013

Isi prosiding dapat disitasi dengan menyebutkan sumbernya.

Hak cipta pada Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, 2013

BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN PERTANIAN

Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner,
Medan 3-5 September 2013./Penyunting, Purwantari [et al.]; Jakarta:
JAARD Press, 2013

xxiii + 634 halaman, ill; 29,7 cm

636

1. Peternakan 2. Veteriner
I. Judul II. Nurhayati

ISBN 978-602-1520-33-8

Penanggungjawab

Bess Tiesnamurti (Kepala Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan)

Penyunting Pelaksana:

Risca Verawaty

Rahmawati Elvianora Pul

Linda Yunia

Rancangan sampul:

Ahmadi Riyanto

JAARD Press

Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian

Jalan Ragunan No. 29, Pasarminggu, Jakarta 12540

Telp: +62 21 7806202, Faks.: +62 21 7800644

Alamat Redaksi:

Jalan Ir. H. Juanda No. 20, Bogor 16122

Telp.: +62 251 8321746, Faks.: +62 251 8326561

e-mail: jaardpress@litbang.deptan.go.id

APLIKASI SPERMA *SEXING* BERBASIS ANTIOKSIDAN TERHADAP KUALITAS DAN INTEGRITAS MEMBRAN SERTA DAYA FERTILITAS INDUK SAPI BALI

(Application of Sperm Sexing Based on Antioxidants to the Quality, Integrity of the Membrane and Fertility of Bali Cattle)

Enny Yuliani, Lukman HY

Fakultas Peternakan, Universitas Mataram
Jl. Majapahit No 62 Mataram Nusa Tenggara Barat
ennyyuliani@hotmail.com

ABSTRACT

The purpose of this study was to examine the application of sperm sexing based on antioxidants to the quality and integrity of the membrane as well as fertility of the Bali cow. This research was purely laboratory experimental research using completely randomized design (CRD). The treatments studied were vitamin E or vitamin C on spermatozoa sexing results with methods of Swim up and percoll gradient centrifugation were packed in the cold store. Parameter observed were semen quality before and after separation process including motility, viability, intact plasma membrane and fertility of Bali cattle. Each treatment consisted of 6 replications. The addition of antioxidants (vitamin E or vitamin C) significantly affected ($P < 0.05$) percentage of motility, viability, membrane integrity, after sexing and cool on both sexing method, even though the overall motility impaired after treatment of sexing up to cold storage. After separation of sperm, percentage of motility, live sperm and plasma membrane integrity decreased slightly. Application of sperm sexing based antioxidants in cold packs increased the motility, viability and intact plasma membrane and in turn improve fertility of Bali cattle.

Key Words: Bali Cattle, Antioxidants, Sperm Sexing

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengkaji aplikasi sperma *sexing* berbasis antioksidan pada simpan dingin terhadap kualitas dan integritas membran serta daya fertilitas induk sapi Bali. Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental murni laboratorium dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan yang dikaji adalah pemberian vitamin E atau vitamin C pada spermatozoa hasil *sexing* dengan metode *Swim up* dan *Sentrifugasi gradien percoll* yang dikemas dalam simpan dingin. Selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap kualitas dan integritas membran spermatozoa serta daya fertilitasnya. Setiap perlakuan terdiri dari 6 kali ulangan. Penambahan antioksidan (vitamin E atau vitamin C) berpengaruh nyata ($P < 0.05$) terhadap persentase motilitas, viabilitas, integritas membran, sesudah *sexing* dan simpan dingin pada kedua metode *sexing*, walaupun secara keseluruhan terdapat penurunan motilitas dari sesudah perlakuan *sexing* sampai simpan dingin. Setelah pemisahan sperma, persentase motilitas, sperma hidup dan integritas membran plasma sedikit mengalami penurunan. Aplikasi sperma *sexing* berbasis antioksidan dalam kemasan dingin dapat meningkatkan motilitas, viabilitas dan membran plasma utuh serta dapat meningkatkan daya fertilitas induk sapi Bali.

Kata Kunci: Sapi Bali, Antioksidan, *Sexing* Sperma

PENDAHULUAN

Sapi Bali merupakan salah satu bangsa sapi lokal Indonesia yang berpotensi untuk mendorong pencapaian penyediaan sapi potong dan bibit sapi nasional. Sapi Bali telah

ditetapkan sebagai salah satu dari tiga komoditas unggulan Nusa Tenggara Barat yaitu jagung dan rumput laut (PIJAR). Sejak dicanangkan Nusa Tenggara Barat-Bumi Sejuta Sapi (NTB-BSS) pada tanggal 17 Desember 2008 yang bertepatan dengan HUT

Emas NTB ke -50, diharapkan pada tahun 2013 terwujud populasi sapi meningkat menjadi 1 (satu) juta ekor (Anonimous, 2009). NTB-BSS merupakan gerakan masyarakat untuk melakukan PIN (Percepatan, Inovasi dan peningkatan nilai tambah) pengembangan peternakan sapi dalam rangka menjadikan peternakan sapi sebagai lokomotif penggerak ekonomi masyarakat. Tingginya permintaan merupakan peluang yang sangat besar untuk meningkatkan pendapatan peternak sapi Bali di NTB, namun di satu sisi disinyalir terdapat penurunan populasi dan mutu genetik sapi Bali. Penerapan teknologi reproduksi melalui Inseminasi Buatan dengan sperma *sexing* berbasis antioksidan menggunakan pejantan unggul merupakan upaya untuk memacu pengembangan peternakan secara efektif dan efisien dalam meningkatkan produktivitas ternak.

Sexing atau pemisahan sperma adalah kegiatan yang bertujuan untuk memisahkan spermatozoa yang membawa sifat kelamin jantan dengan betina. Pemilihan teknologi *sexing* spermatozoa merupakan salah satu pilihan yang tepat dalam rangka peningkatan efisiensi reproduksi ternak yang mampu meningkatkan efisiensi usaha peternakan baik dalam skala peternakan rakyat maupun dalam skala peternakan komersial. Salah satu sasaran dalam bidang reproduksi ternak adalah memproduksi anak yang mempunyai jenis kelamin sesuai yang diinginkan. Pengaturan rasio seks yang diproduksi secara komersial untuk menghasilkan anak jantan atau betina superior sebagai induk untuk penerus keturunan atau bibit jantan.

Prosedur pemisahan dapat menginduksi kerusakan membran plasma, akrosom, pembungkus mitokondria, pelepasan berbagai enzim, penurunan lipoprotein dan asam amino, aglutinasi kepala spermatozoa sehingga dapat mengakibatkan penurunan motilitas bahkan kematian spermatozoa dan daya fertilitasnya (Yuliani et al. 2009). Kematian ini terjadi karena spermatozoa tidak mampu mensintesa energi maupun memperbaiki sel-selnya yang rusak, sementara spermatozoa yang masih hidup sangat sensitif terhadap lingkungan luar. Keadaan ini disebabkan terjadi stress oksidatif yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein dan lemak (Winarto, 2010). Kondisi tersebut dapat teratasi dengan

penambahan antioksidan untuk menetralkan stress oksidatif dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan radikal bebas terhadap sel normal. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapinya kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stress oksidatif (Hariyatmi, 2004).

Vitamin E (*α-tocopherol*) dan vitamin C merupakan antioksidan alam, berperan untuk menurunkan kepekaan membran plasma spermatozoa terhadap peroksidasi lipid. Secara alami vitamin E di dalam sel dapat mempertahankan keutuhan selubung mitokondria, memacu berbagai enzim oksidatif dalam metabolisme karbohidrat dan lipida. Peningkatan konsentrasi vitamin E di dalam medium kultur berkaitan dengan berkurangnya kepekaan sel terhadap peroksidasi lipid dan menghambat *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Jozwik et al. 1997). Vitamin E merupakan sistem proteksi membran dari luar, sehingga dapat mencegah kerusakan sel dari gangguan bahan oksidan dalam media kultur. Vitamin C larut dalam air mempunyai potensial redoks rendah, namun efektif terhadap peroksidasi lipid sebagai penyapu radikal bebas.

Fakta tersebut menjadi dasar ilmiah untuk mengkaji aplikasi sperma *sexing* berbasis antioksidan pada simpan dingin terhadap kualitas dan integritas membran serta daya fertilitas induk sapi Bali.

MATERI DAN METODE

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental murni laboratorik dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan yang dikaji adalah pemberian vitamin E atau vitamin C pada spermatozoa hasil *sexing* dengan metode *Swim up* dan *Sentrifugasi gradien percoll* yang dikemas dalam simpan dingin. Selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap kualitas dan integritas membran spermatozoa serta daya fertilitasnya. Setiap perlakuan terdiri dari 6 kali ulangan. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Imunobiologi Universitas Mataram dan di peternakan rakyat Desa Anyar Kecamatan Bayan Kabupaten Lombok Utara NTB.

Alat penelitian yang digunakan terdiri dari: Vagina Buatan, Tabung Gelas, Gelas Penampungan, *Laminar flow* (ESCO, Filter steril 0,22 μm , inkubator, *Hot plate-magnetic stirer* (Labinco, Holland), Autoklaf (Tommy), Mikroskop binokuler (Olympus, Japan), *Centrifugator* (EBA-3S, Hettich), Neraca listrik (Electronic Balance, Chyo JP2-160), *Freezer* (Sharp, Japan) dan *refrigerator* (Sharp, Japan), 1 set mikro pipet (Eppendorf, Gmn), *Waterbath* (Mettler), *Oven* (Heraeus), Nanopure (Barnstead), PH meter (Beckman), *Warm plate* (Cole parmer), *Objec glass* (gelas objek), *Cover glass* dan *thoma*, serta seperangkat kandang sapi Bali. Bahan penelitian yang digunakan adalah berupa bahan baku untuk memproses semen, 1 ekor pejantan unggul Sapi Bali, 20 ekor betina Sapi Bali, vitamin E dan C.

Semen sapi Bali diperoleh dari penampungan sperma dengan motilitas spermatozoa setelah penampungan adalah >70%. Teknologi yang digunakan untuk *sexing* spermatozoa adalah metode *Swim up*, dan *Sentrifugasi gradien densitas percoll*. Pemisahan sperma dengan metode *Swim up* adalah sebagai berikut: (a) pellet yang berada di dasar tabung sekitar 100 μl setelah pencucian ditambahkan media EBSS sebanyak 3 ml secara perlahan pada bagian atas spermatozoa. Tabung diletakkan tegak lurus pada rak dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar di dalam laminar flow; (b) sebanyak 200 μl semen diambil dengan mikropipet 2 mm dari lapisan atas media. Pemisahan Spermatozoa dengan *Sentrifugasi gradien densitas percoll* dengan menggunakan sampel semen yang berada di dasar tabung berdiameter 120 mm dengan dasar berbentuk kerucut berisi 2 lapis larutan percoll (Sigma, P-1644) yang telah disiapkan sebelumnya dalam inkubator 38,5°C. Lapisan yang berada di dasar tabung adalah larutan Percoll dengan konsentrasi 90% sebanyak 3 ml sedang lapisan di atasnya adalah larutan Percoll dengan konsentrasi 45% sebanyak 3 ml. Selanjutnya sentrifugasi 750 x g selama 20 menit. Pellet spermatozoa di dasar tabung dicuci dalam *Earle's Balanced Salt Solution* (EBSS, Sigma E-6132) yang mengandung 1,5% *Bovine Serum Albumin* (BSA, FAF free, Sigma A-60003).

Motilitas spermatozoa dapat diketahui dengan menganalisis sampel semen sekitar 10-15 μl di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali. Pengamatan viabilitas spermatozoa dilakukan dengan mengamati 10 μl sampel ditambahkan dengan 100 μl eosin negrosin, buat preparat ulas. Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali. Spermatozoa hidup akan tampak berwarna putih dan yang mati berwarna kemerahan. Status membran spermatozoa diamati dengan metode *Hypoosmotic Swelling Test* (HOS Test). Spermatozoa yang mempunyai membran rusak tidak menggelembung, sedangkan membran yang masih berfungsi terjadi pembengkakan. *Hypoosmotic Solution* terdiri dari: 1.351 g fruktosa dan 30.735 g sodium sitrat dalam 100 ml aquadestilata masukkan dalam tabung dan panaskan pada suhu 37°C selama 10 menit. Sampel semen sebanyak 0,1 ml ditambahkan HOS, diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Pemeriksaan dilakukan di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 x. Sperma disimpan di dalam medium pengencer yang digunakan adalah: sodium sitrat 2,37 g, glukosa 0,80 g, kuning telur, 2,50 ml, aquadestilata 97,50 ml aquadestilata. Penambahan bahan pengencer didasarkan pada perhitungan konsentrasi, progresif motilitas dan volume sperma dan dosis IB (125×10^6) dan disimpan pada temperatur 5-4°C (kulkas). Evaluasi atau pengamatan terhadap motilitas, spermatozoa hidup dan status membran dilakukan setelah penyimpanan hari pertama dan ketiga. Inseminasi Buatan dilakukan pada 20 ekor induk sapi Bali betina sehat dan dalam keadaan tidak bunting setelah menunjukkan tanda berahi. Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis sidik ragam (*Analysis of Variance/ANOVA*) untuk mengkaji kinerja antioksidan terhadap kualitas dan integritas membran spermatozoa sapi Bali.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Efektivitas kinerja antioksidan terhadap motilitas sperma *sexing*

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa penambahan antioksidan (vitamin E atau vitamin C) berpengaruh nyata ($P < 0,05$)

terhadap penurunan motilitas setelah sering dan disimpan dingin pada kadar nitrat sering, walaupun secara keseluruhan terdapat penurunan motilitas dari setelah perlakuan sering sampai disimpan dingin (Tabel 1).

Tabel 1. Rasio persentase motilitas spermatozoa sering terhadap antioksidan

Perlakuan	Motilitas (%)	
	Swim Up	Percoll
Setelah penampungan (K125)		
Setelah sering	67,66 ^a	65,34 ^a
Vit E	68,78 ^a	65,23 ^a
Vit C		
Setelah disimpan dingin	62,13 ^b	61,24 ^b
Vit E	64,56 ^b	62,23 ^b
Vit C		
Perawatan	5,50	2,88
Vit E	4,20	3,80
Vit C		

Nilai dengan huruf yang berbeda pada kolom dan baris yang sama menunjukkan beda nyata ($P < 0,05$).

Kinerja vitamin E dan C terhadap motilitas spermatozoa baik setelah sering maupun disimpan dingin menunjukkan kemampuannya dalam proteksi terhadap spermatozoa. Vitamin E dan vitamin C memberikan perlindungan terhadap membran plasma spermatozoa dengan cara menurunkan kepekatan membran plasma terhadap peroksidasi lipid. Bertarafan penganutan motilitas spermatozoa pada sapi Bali yang disimpan dingin membuktikan bahwa metode sering dan bahan pengencer yang digunakan dengan penambahan antioksidan baik vitamin E maupun vitamin C dapat melindungi spermatozoa dari kerusakan akibat pengaruh perubahan suhu, perubahan tekanan osmotik dalam lingkungan sel spermatozoa. Penelitian ini menunjukkan motilitas yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan penelitian Balkis (2012), telah melakukan perbandingan kualitas semen beku produksi Bali Inseminasi Buatan (BIB) Lembang menghasilkan motilitas sebesar 29% dan BIB Singaperbangsa sebesar 32,85%. Sumartin (2003) melaporkan bahwa semen beku produksi BIB Lembang mendapatkan motilitas sebesar 30%.

Vitamin E dan vitamin C dapat mempertahankan motilitas spermatozoa dengan mengurangi peroksidasi lipid dan spermatozoa sebagai akibat kerusakan membran pada membran dan terdapatnya plasma oksidatif. ROS dalam konsentrasi normal sekitar 10-100% dengan difektakan oleh antioksidan yang menghasilkan energi dalam bentuk ATP melalui fosforilasi oksidatif dan sekitar 1-9% dari oksidan tersebut berakumulasi secara abnormal menjadi ROS (Halliwell dan Gutteridge, 1999). Senyawa aldehyd merupakan zat yang toxic terhadap sel dan menyebabkan membran kehilangan integritasnya (Grivosa dan Le Lannou, 1997). Makin tinggi kadar aldehyd dalam suspensi spermatozoa akan menyebabkan semakin cepat terjadinya kerusakan membran sel. Pada membran sel, ROS mengadakan sejumlah reaksi rantai dengan asam lemak khususnya asam lemak poli tak jenuh yang dikenal sebagai peroksidasi lipid. Semakin lama waktu inkubasi, ROS yang terbentuk tidak mampu dinetralkan oleh antioksidan, akibatnya tingkat kerusakan membran sel semakin tinggi. Hal ini sesuai dengan penelitian Tykocznegon dan Wicakanti (2012) yang melaporkan bahwa stres oksidatif mempunyai hubungan dengan motilitas, morfologi, daya tahan hidup, kemampuan kapadasi, dan bertambahnya kerusakan membran.

Efektivitas kinerja antioksidan terhadap daya hidup sperma sering

Penambahan vitamin E dan vitamin C setelah sering dan disimpan dingin dapat menghasilkan peningkatan spermatozoa hidup lebih tinggi dibandingkan tanpa antioksidan baik pada metode Swim up maupun pada metode Percoll (Tabel 2).

Spermatozoa yang disimpan dingin sering terpapar oleh level oksigen yang lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi fisiologis, hal ini disebabkan oleh stres oksidasi. Antioksidan berfungsi sebagai penyetor elektron radikal sehingga tidak terjadi peroksidasi lipid dan tidak menyebabkan kerusakan membran, oleh karena itu pemberian antioksidan sangat dianjurkan (Bui et al. 1990; Yado et al. 2006). Antioksidan diketahui memiliki dua fungsi yaitu sebagai pemberi

atom hidrogen dan memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme dengan berbagai mekanisme diluar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan pengubahan radikal lipida ke bentuk lebih stabil. Senyawa ini dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida (R^{\bullet} , ROO^{\bullet}) atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil, sementara turunan radikal antioksidan (A^{\bullet}) memiliki keadaan lebih stabil dibandingkan dengan radikal lipida (Ardiansyah, 2007). Selanjutnya dijelaskan bahwa penambahan antioksidan dapat menghambat atau mencegah reaksi autooksidasi lemak dan konsentrasi antioksidan yang ditambahkan dapat berpengaruh pada laju oksidasi. Kerusakan pada membran sel karena adanya reaksi peroksida lipid dan kolestrol membran yang mengandung asam lemak tidak jenuh majemuk. Sebagai akibat dari peroksidasi lipid membran mengakibatkan kerusakan membran antara lain perubahan fluiditas membran, kerusakan struktur dan gangguan fungsi membran. Kemampuan ROS mengadakan peroksidasi dengan asam lemak tidak jenuh majemuk pada membran mengakibatkan kerusakan dan menyebabkan berkurangnya viabilitas spermatozoa (Krausz et al. 1994).

Tabel 2. Rataan persentase viabilitas sperma *sexing* berbasis antioksidan

Perlakuan	Viabilitas (%)	
	<i>Swim up</i>	<i>Percoll</i>
Setelah penampungan (87,30%)		
Sesudah <i>sexing</i>		
Vit E	75,34 ^a	77,76 ^a
Vit C	76,68 ^a	72,53 ^a
Sesudah simpan dingin		
Vit E	64,23 ^b	66,24 ^b
Vit C	71,29 ^b	70,24 ^b
Penurunan		
Vit E	11,11	5,23
Vit C	5,39	2,29

Nilai dengan huruf yang berbeda pada kolom dan baris yang sama menunjukkan beda nyata ($P < 0,05$)

Pemberian vitamin E (1 mg/ml) dalam penelitian ini menunjang sistem proteksi

membran dari luar, sehingga dapat mencegah kerusakan sel dari gangguan bahan-bahan oksidan dalam media kultur. Sifat vitamin E tidak larut dalam air sehingga tidak dapat berfungsi secara langsung, bahkan dapat mengganggu sistem hidrasi sel. Oleh karena itu, sebelum ditambahkan dalam medium terlebih dahulu dipecah dalam etanol 0,05% dan tidak menimbulkan pengaruh pada kehidupan spermatozoa (Olson dan Seidel, 2003). Pemberian vitamin C (0,88 mg/ml) dapat bertindak secara sinergis sebagai antioksidan (Olson dan Seidel, 2003) didukung oleh penelitian sebelumnya pemberian asam askorbat (300, 600 microM), alpha tocopherol (30, 60 microM) menunjukkan adanya peningkatan kualitas sperma (Yadav et al. 2006; Hughes et al. 2007).

Efektivitas kinerja antioksidan terhadap membran plasma utuh sperma *sexing*

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa penambahan antioksidan (vitamin E atau vitamin C) berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap persentase membran plasma utuh sesudah *sexing*, sesudah simpan dingin pada kedua metode *sexing* (Tabel 3).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa dalam kemampuan mempertahankan membran plasma utuh, lebih tinggi terlihat pada metode *Swim up* dibandingkan dengan metode *Sentrifugasi gradien densitas percoll*. Keberadaan Vitamin C dan E di dalam media EBSS kemungkinan bertindak sebagai antioksidan, tetapi apakah dengan jalan mencegah terhimpunnya senyawa-senyawa oksidan secara berlebihan (*preventive antioxidants*) atukah mencegah reaksi rantai berlanjut (*chain-breaking anti-oxidants*) belum jelas. Vitamin C dan E bertindak sebagai senyawa antioksidan yang dapat meredam dampak negatif oksidan termasuk enzim dan protein pengikat logam dengan cara mencegah pembentukan radikal bebas menjadi molekul yang kurang mempunyai kesempatan bereaksi, atau dengan mencegah pembentukan radikal bebas baru dari molekul lain (Donald et al. 1998; Suryohudoyo, 2000). Pada pengamatan yang dilakukan oleh Balkis (2002) kualitas semen beku produksi BIB Lembang memperoleh membran plasma utuh pada straw

produksi sebesar 40,55% dan BIB Singosari sebesar 54,45%, sedangkan Sumarlin (2003) mendapatkan pada straw produksi BIB Lembang sebesar 49,03%. Nilai standar minimal untuk membran plasma utuh sebesar 30% (Evan dan Maxwell, 1987).

Tabel 3. Rataan persentase membran plasma utuh pada spermatozoa *sexing* berbasis antioksidan

Perlakuan	Membran plasma utuh (%)	
	Swim up	Percoll
Setelah penampungan (85,25)		
Sesudah <i>sexing</i>		
Vit E	74,36 ^a	76,20 ^a
Vit C	75,47 ^a	77,30 ^a
Sesudah simpan dingin		
Vit E	70,34 ^b	72,22 ^b
Vit C	70,30 ^b	72,42 ^b
Penurunan		
Vit E	4,02	3,98
Vit C	5,17	4,88

Nilai dengan huruf yang berbeda pada kolom dan baris yang sama menunjukkan beda nyata ($P < 0,05$)

ROS merupakan oksidan yang kuat, walaupun kekuatannya berbeda-beda dan reaktivitasnya dapat merusak komponen sel yang penting untuk mempertahankan integritas dan kehidupan sel (Suryohudoyo, 2000). ROS dapat merusak sel atau molekul yang ada disekitarnya dengan cara mengoksidasi atau mereduksi elektron dari molekul lain yang ada disekitarnya (Halliwell dan Gutteridge, 1999) dan terbukti ROS dapat menyebabkan disfungsi sel melalui perubahan fungsi protein struktur (enzim, reseptor, antibodi, pembentuk matrik dan sitoskeleton), rantai DNA, dan membran sel, sehingga integritas sel terganggu (Suryohudoyo, 2000, Agarwal, et al. 2003).

Daya fertilitas induk sapi Bali dengan sperma *sexing* berbasis antioksidan

Daya fertilitas yang tinggi adalah dasar dan tujuan setiap program peternakan, makin banyak sapi betina yang kawin berulang (*repeat breeders*) akan sangat merugikan baik bagi pelaksana IB maupun bagi peternak. Penentuan penilaian daya fertilitas ternak setelah inseminasi buatan dapat diketahui

dengan mengamati beberapa indikator sebagai dasar penentuan kebijaksanaan selanjutnya.

Pada Tabel 4, menunjukkan bahwa persentase NR, CR dan S/C fertilitas induk sapi bali hasil IB dengan spermatozoa *sexing* dalam kemasan cair pada metode *Sentrifugasi gradien densitas percoll* sedikit berbeda dengan yang dihasilkan oleh Herliantien (2006) IB dengan spermatozoa *sexing* dihasilkan pedet jantan dengan menggunakan semen beku Y sebanyak 33 ekor dari kelahiran 47 ekor (70,21%) dan 29 ekor pedet betina sapi perah basil IB yang menggunakan semen beku X dari 30 kelahiran (96,66%). Hasil tersebut mencerminkan bahwa fertilitas semen beku *sexing* adalah S/C = 1,71 dan CR = 56,45%. Angka-angka tersebut setara dengan keberhasilan IB dengan semen beku yang tidak di *sexing*.

Tabel 4. Daya fertilitas induk sapi Bali hasil IB dengan sperma *Sexing* berbasis antioksidan

Daya fertilitas	Metode <i>sexing</i>	
	<i>Sentrifugasi gradien densitas percoll</i>	<i>Swim up</i>
Non return rate/ NR (%)	75	100
Conception rate/CR (%)	75	100
Service per conception (S/C)	1,25	1,0

NR = Sapi betina yang tidak kembali minta kawin dalam waktu 28 sampai 35 hari

CR = Sapi betina yang bunting pada inseminasi pertama

S/C = jumlah pelayanan inseminasi sampai terjadinya kebuntingan

Penilaian keberhasilan program IB dapat dilihat dari peningkatan kualitas ternak berupa produktivitas dan populasi ternak yang ditandai dengan meningkatnya angka kelahiran. Hal ini ditentukan dengan efisiensi reproduksi yang dapat diukur dari parameter berupa S/C dan CR. Sesuai dengan petunjuk dari Dirjen Peternakan, bahwa dalam menilai keberhasilan program IB di satu wilayah harus memenuhi kriteria S/C sapi potong untuk wilayah introduksi: 2,0-2,5, wilayah pengembangan:

1,8-2,0 dan wilayah mandiri/swadaya: 1,5-1,8 dan CR berkisar antara 55-60%. Angka konsepsi ditentukan oleh 3 faktor yaitu kesuburan pejantan, kesuburan betina dan teknik inseminasi. *Service per Conception* untuk membandingkan efisiensi relatif dari proses reproduksi di antara individu sapi betina yang subur, sering dipakai penilaian *service* yang dibutuhkan oleh seekor betina sampai terjadinya kebuntingan atau konsepsi. Makin rendah nilai tersebut, makin tinggi kesuburan sapi betina dalam kelompok tersebut. Sebaliknya makin tinggi nilai S/C, makin rendahlah nilai kesuburan kelompok betina tersebut. Daya Fertilitas adalah kemampuan sapi betina untuk menghasilkan anak yang daya tahan hidupnya tinggi. Kemampuan fertilitas ternak sapi dipengaruhi oleh faktor ternak, peternak dan lingkungan. Faktor lingkungan sangat berpengaruh terhadap fertilitas ternak sapi bila dibandingkan dengan faktor genetik. Manajemen kurang baik dapat mengakibatkan terlambatnya dewasa kelamin, interval kelahiran yang panjang dan fertilitas yang rendah. Ditinjau dari segi fertilitas maka sapi Bali dalam penelitian ini menunjukkan fertilitas tinggi (mencapai 83-86%), sedangkan sapi bangsa Eropa mempunyai angka fertilitasi yang rendah yaitu antara 50-60%.

KESIMPULAN

Aplikasi sperma *sexing* berbasis antioksidan dalam kemasan dingin dapat meningkatkan motilitas, viabilitas dan membran plasma utuh serta dapat meningkatkan daya fertilitas induk sapi Bali. Efektivitas kinerja antioksidan dapat diketahui lebih rinci dengan melakukan pengujian terhadap peningkatan peroksida lipid dan senyawa aldehid yang terbentuk setelah *sexing* sperma dengan menggunakan metode *Sentrifugasi gradien densitas percoll*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada DP2M DIKTI melalui Skim penelitian Prioritas Nasional Masterplan Percepatan dan Perluasan Pembangunan Ekonomi Indonesia 2011-2025 (PENPRINAS MP3EI 2011-2025), sehingga penelitian ini dapat terlaksana.

DAFTAR PUSTAKA

- Agarwal A, Saleh RA, Bedalwy MA. 2003. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertil Steril*. 79:829-843.
- Anonim. 2009. Profil agribisnis peternakan Nusa Tenggara Barat. Dinas Peternakan Provinsi Nusa Tenggara Barat.
- Balkis RAF. 2002. Kajian kualitas semen beku pada beberapa bangsa sapi. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.
- Bast A, Bieweng GP, Haenen Grmm. 1991. The toxicity of antioxidants and their metabolites. *Environm. Toxicol. Pharmacol*. 11:251-258.
- Donald EZ, Zhong CQ, Overstreet W. 1998. Separation of cryopreserved human semen using sephadex columns, washing or percoll gradient. *J Androl*. 12:201-208.
- Griveau JP, Lelanou D. 1997. Reactive oxygen species and human spermatozoa.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. 1999. Free radical in biology and medicine. Third Edition. Oxford: Oxford University Press. pp. 1-35, 246-350, 664-667.
- Hariyatmi. 2004. Kemampuan Vitamin E sebagai antioksidan terhadap Radikal Bebas pada Lanjut Usia. *J MIPA Vol 14 No. 1* Srakarta. UNS.
- Herliantien, Sarastina, Amaliya A, Emilia. 2009. Peningkatan populasi sapi betina melalui aplikasi teknologi *sexing* sperma. *Semiloka Nasional Prospek Industri Sapi Perah Menuju Perdagangan Bebas*.
- Hughes CM, Lewis SE, McKelvey-Martin VJ, Thompson W. 2007. The effect of antioxidant supplementation during percoll preparation on human sperm DNA integrity. Department of Obstetrics and Gynecology. The Queens University of Belfast, Institute of Clinical Science, UK.
- Jozwik A, Anna Sliva-Jozwik, Adam Kolatij. 1997. The effect of administration of high dose of selected antioxidant upon the activity of beta glucoronidase. *Polish Academic of Sci Gen Anim Breed*. 05-552 Volka.
- Krausz C, Mills C, Rogers S. 1994. Stimulation of oxidant generation by human sperm suspensions using phorbol esters and formyl peptides: relationships with motility and fertilization in vitro. *Fertil Steril*. 62:599-605.