

BIONATURE

p-ISSN 1411 - 4720

e-ISSN 2654 - 5160

Abstract. This research is a type of experimental research carried out in a laboratory with the aim of knowing a symptom or effect that arises as a result of certain treatments. The research was conducted at the Immunobiology Laboratory, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Mataram University. The material used in the study was 1 male Bali cow, about 3.5 years old with a cow weight of 460 kg, which the semen was collected using an artificial vagina. The experimental design used in this study was a completely randomized design which was arranged in a factorial design consisting of 3 (three) factors. The first factor is the difference in layer (L) which consists of 2 (two) levels, namely the Upper Layer (LA) and the Lower Layer (LB). The second factor is the concentration of tomato lycopene (P) consisting of 5 (five) levels, namely: 0% (P0), 5% (P1), 10% (P2), 15% (P3) and 20% (P4). The third factor is storage time (H) which consists of 6 (six) factors, namely 1 day (H1), 2 days (H2), 3 days (H3), 4 days (H4), 5 days (H5) and 6 days (H6). The three factors combined to produce 60 treatment combinations, each treatment combination was repeated 6 (six) times so that there were 360 experimental units. The results of the analysis of variance showed that the addition of the tomato fruit lycopene antioxidant and the separation by the swim up method had no significant effect ($P > 0.05$) on the normality and abnormality of spermatozoa. The addition of tomato fruit lycopene antioxidants and the separation using the swim up method did not have an effect on increasing spermatozoa abnormalities, but did not have a negative effect on the spermatozoa of Bali cattle.

Key words: antioxidant, tomato fruit, spermatozoa, Bali cow

Syuhriatin
Universitas Islam Al-Azhar
Indonesia

Efektivitas Antioksidan *Likopen* Pada Buah Tomat (*Lycopersicon esculentum*) Terhadap Normalitas dan Abnormalitas Spermatozoa Sapi Bali dengan Metode *Swim up*.

Syuhriatin

Abstrak. Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimen yang dilakukan di laboratorium dengan tujuan untuk mengetahui suatu gejala atau pengaruh yang timbul sebagai akibat dari adanya perlakuan tertentu. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Imunobiologi Fakultas MIPA Universitas Mataram. Materi yang digunakan dalam penelitian yaitu 1 ekor sapi bali jantan yang berumur sekitar 3,5 tahun dengan berat badan sapi 460 kg, yang ditampung semennya dengan menggunakan vagina buatan. Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap yang disusun dengan pola faktorial yang terdiri atas 3 (tiga) faktor. Faktor pertama adalah perbedaan lapisan (L) yang terdiri atas 2 (dua) taraf yaitu Lapisan Atas (LA) dan Lapisan Bawah (LB). Faktor kedua adalah konsentrasi likopen buah tomat (P) terdiri atas 5 (lima) taraf, yaitu: 0% (P0), 5% (P1), 10% (P2), 15% (P3) dan 20% (P4). Faktor ketiga adalah lama penyimpanan (H) yang terdiri atas 6 (enam) faktor, yaitu 1 hari (H1), 2 hari (H2), 3 hari (H3), 4 hari (H4), 5 hari (H5) dan 6 hari (H6). Ketiga faktor tersebut bila dikombinasikan menghasilkan 60 kombinasi perlakuan, setiap kombinasi perlakuan diulang 6 (enam) kali sehingga terdapat 360 satuan (unit) percobaan. Hasil analisis varians menunjukkan, bahwa penambahan antioksidan likopen buah tomat dan pemisahan dengan metode swim up tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap normalitas dan abnormalitas spermatozoa. Penambahan antioksidan likopen buah tomat dan pemisahan dengan metode swim up tidak memberikan pengaruh terhadap peningkatan abnormalitas spermatozoa, namun tidak memberikan efek negatif pada spermatozoa sapi bali.

Kata Kunci: antioksidan, buah tomat, spermatozoa, sapi bali

Pendahuluan

Sapi bali berasal dari banteng (*Bibos banteng*) yang telah didomestikasi berabad-abad lalu yang termasuk Famili *Bovidae*, genus *Bos* (Hardjosubroto dan Astuti, 1993). Sapi bali memiliki beberapa keunggulan yaitu tingkat kesuburan sangat tinggi, merupakan sapi pekerja yang baik dan efisien, dapat memanfaatkan hijauan yang kurang bergizi, persentasi karkas sangat tinggi, dan daging rendah lemak subcutan (Pane, 1991). Kemampuan reproduksi sapi bali adalah sangat baik di antara sapi-sapi lokal di Indonesia, karena sapi bali bisa beranak setiap tahun. Dengan manajemen yang baik penambahan berat badan harian bisa mencapai 0,7 kg per hari. Inseminasi buatan merupakan salah satu teknologi dalam reproduksi ternak yang memiliki manfaat dalam mempercepat peningkatan mutu genetik ternak, mencegah penyebaran penyakit reproduksi yang ditularkan melalui perkawinan alam dan meningkatkan efisiensi penggunaan pejantan unggul. Penerapan teknologi IB dapat menurunkan atau

menghilangkan biaya investasi pengadaan dan pemeliharaan ternak pejantan (Kartasudjana, 2001). Selain itu, teknologi IB juga dapat meningkatkan produktivitas dan mengatur produksi ternak sapi melalui aplikasi teknologi inovatif seperti sexing spermatozoa.

Pemisahan sperma (*sexing*) adalah kegiatan yang bertujuan untuk memisahkan spermatozoa yang membawa sifat kelamin jantan dengan betina. Teknologi ini bertujuan untuk menjawab tingginya permintaan peternak terhadap pedet atau anak sapi jantan karena harga jualnya yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan anak betina. Secara umum, proporsi perbandingan spermatozoa X dan Y dalam satu ejakulat semen adalah seimbang (50:50) sehingga jenis kelamin keturunannya 50:50. Dengan teknik sexing maka komposisi tersebut dapat dimodifikasi. Sexing spermatozoa X dan Y didasarkan atas perbedaan karakteristik yang dimiliki oleh masing-masing jenis spermatozoa antara lain kandungan DNA, ukuran spermatozoa, motilitas, muatan permukaan serta fluoresensi kromosom (Sharpe, J and Evans, 2009).

Pemisahan spermatozoa merupakan salah satu upaya efisiensi dalam mengubah rasio spermatozoa pembawa kromosom X dan Y. Perbedaan kandungan DNA antara spermatozoa X dan Y, mengakibatkan kepala spermatozoa X lebih besar 2,8 - 7 % dari pada spermatozoa Y (Johnson, 1996; Dauw et al, 2003). Spermatozoa X mengandung kromatin yang lebih banyak pada bagian kepala, sehingga ukuran dan berat kepala spermatozoa X lebih besar dibanding spermatozoa Y (Gordon, 1997), dengan demikian karakter pergerakan dan ukuran serta berat yang berbeda dapat dijadikan dasar pemisahan spermatozoa berkromosom X dan Y. Berdasarkan perbedaan karakter pergerakan antara spermatozoa berkromosom X dan Y, dan berdasarkan perbedaan berat, maka dikembangkan metode renang atas (*Swim up*) untuk pemisahan spermatozoa (Pegorago et al, 1998).

Proses pembekuan spermatozoa dapat menyebabkan kematian spermatozoa sekitar 30%. Hal ini disebabkan karena kerusakan pada membran plasma spermatozoa yang merupakan bagian dari susunan asam lemak tak jenuh, kemudian kondisi ini sebagai akibat dari banyaknya kandungan asam lemak tak jenuh pada membran spermatozoa yang sangat mudah mengalami peroksidasi (Maxwell dan Waston, 1996)

Banyak teori yang mengemukakan alasan terjadinya reaksi peroksidasi lipid sebagai akibat dari adanya radikal bebas yang bersifat merusak struktur matrik lipid sehingga menyebabkan ketidakstabilan pada membran. Antioksidan ditambahkan untuk mengurangi kerusakan yang terjadi akibat reaksi peroksidasi tersebut.

Tomat (*Lycopersicon esculentum*) merupakan salah satu produk hortikultura yang memiliki kandungan senyawa karotenoid bernama likopen. Likopen adalah salah satu zat pigmen kuning tua sampai merah tua yang termasuk kelompok karotenoid yang bertanggungjawab terhadap warna merah pada tomat. Senyawa karotenoid ini dikenal baik sebagai senyawa yang memiliki daya antioksidan tinggi, senyawa ini mampu melawan radikal bebas akibat polusi dan radiasi sinar UV (Schuler, 1990). Berdasarkan uraian diatas maka dilakukan penelitian tentang efektivitas antioksidan *likopen* pada buah tomat (*Lycopersicon esculentum*) terhadap normalitas dan abnormalitas spermatozoa sapi bali dengan menggunakan metode *swim up*.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimen yang dilakukan di laboratorium dengan tujuan untuk mengetahui suatu gejala atau pengaruh yang timbul sebagai akibat dari adanya perlakuan tertentu.

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Imunobiologi Fakultas MIPA Universitas Mataram. Materi yang digunakan dalam penelitian yaitu 1 ekor sapi bali jantan yang berumur sekitar 3,5 tahun dengan berat badan sapi 460 kg, yang ditampung semennya dengan menggunakan vagina buatan.

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap yang disusun dengan pola faktorial yang terdiri atas 3 (tiga) faktor. Faktor pertama adalah perbedaan lapisan (L) yang terdiri atas 2 (dua) taraf yaitu Lapisan Atas (LA) dan Lapisan Bawah (LB). Faktor kedua adalah konsentrasi *likopen* buah tomat (P) terdiri atas 5 (lima) taraf, yaitu: 0% (P0), 5% (P1), 10% (P2), 15% (P3) dan 20% (P4). Faktor ketiga adalah lama penyimpanan (H) yang terdiri atas 6 (enam faktor), yaitu 1 hari (H1), 2 hari (H2), 3 hari (H3), 4 hari (H4), 5 hari (H5) dan 6 hari (H6). Ketiga faktor tersebut bila dikombinasikan menghasilkan 60 kombinasi perlakuan, setiap kombinasi perlakuan diulang 6 (enam) kali sehingga terdapat 360 satuan (unit) percobaan

Langkah-langkah Penelitian Pembuatan Pengencer

Pembuatan pengencer tris kuning telur dilakukan dengan cara mencampurkan bahan-bahan yang terdiri dari : tris aminometan sebanyak 2,472 gr, fructosa sebanyak 1,144 gr, Penicilin 0,1 gr dan steptomycin 0,06 gr dan asam sitrat sebanyak 1,384 gr. Bahan-bahan tersebut dimasukkan kedalam erlenmeyer 250 ml, ditambahkan aquades sebanyak 80 ml kemudian ditutup dengan aluminium foil dan dihomogenkan selama 10 menit dengan magnetic stirer. Setelah itu dicampur dengan 20 ml kuning telur dan diaduk secara pelan-pelan sampai tercampur rata dan disimpan pada suhu . Setelah itu 2 - 3 hari penyimpanan, terdapat endapan dari larutan tersebut. Bila akan digunakan pengencer tersebut, maka supernatan diambil dan dipisahkan dari endapan dengan menggunakan spuit disposable. Kemudian untuk penambahan antioksidan *likopen* ekstrak buah tomat yaitu dengan masing masing perlakuan yang berbeda (5%, 10%, 15% dan 20%).

Pembuatan Preparat Apus

Preparat apus diperlukan untuk menghitung jumlah spermatozoa yang hidup dan spermatozoa yang secara morfologis tidak normal. Preparat apus dibuat dengan cara meletakkan setetes semen pada pinggir permukaan gelas obyek, lalu dicampur dengan setetes zat pewarna eosin dan dihomogenkan dengan sebatang lidi steril selanjutnya menempatkan gelas obyek yang lain dengan posisi miring diatas campuran tadi dengan menggeser perlahan – lahan sepanjang permukaan gelas obyek pertama. Preparat apus yang sudah terbentuk kemudian dikeringkan dengan kipas angin.

Penampungan Semen

Penyiapan seekor sapi bali jantan untuk ditampung semennya dengan bantuan vagina buatan, sapi sebagai pemancing di ikat pada kandang penjepit kemudian diatas pangkal ekor sapi pemancing tersebut dilap dengan air agar pejantan yang akan ditampung semennya mau menaiki sapi pemancing tersebut setelah sapi mengeluarkan gland penis maka gland penisnya dimasukkan ke dalam vagina buatan. Semen yang telah ditampung diperiksa secara makroskopis dan mikroskopis seperti motilitas, volume, konsistensi, bau, pH, konsentrasi dan warna.

Evaluasi Semen

Penilaian morfologi spermatozoa dilakukan dengan meletakkan preparat apus dibawah mikroskop dengan pembesaran 10 x 10. Pemeriksaan meliputi spermatozoa normalitas dan abnormalitas.

Hasil dan Pembahasan

Hasil penelitian yang telah dilakukan, maka diperoleh rata-rata persentase normalitas spermatozoa sapi bali dengan penambahan antioksidan likopen buah tomat dengan metode *swim up* pada LA dan LB tercantum pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata dan Standar Deviasi Persentase Normalitas Spermatozoa Sapi Bali dengan Penambahan Antioksidan *Likopen* Buah Tomat Pada LA dan LB.

Penyimpanan (Hari)	Lapisan									
	Atas					Bawah				
	0%	5%	10%	15%	20%	0%	5%	10%	15%	20%
0	99±1.5a	95±3.1d	98±2.4a	95±3.4a	97±1.8c	96±5.8a	98±2.2a	95±3.5c	95±2.8c	96±4.6b
1	97±3.1c	97±2.1b	97±2.6b	95±3.3b	98±1.6b	95±5.1b	98±2.0a	98±1.9a	97±1.9a	97±1.9a
2	94±5.8f	98±2.1a	97±5.0b	96±3.2c	98±2.4b	95±4.3b	97±2.8b	96±2.8b	97±3.0a	95±4.6c
3	96±3.1d	98±2.0a	96±2.1c	95±2.7d	95±5.7e	96±3.2a	96±3.8c	95±5.5c	94±4.3d	95±3.5c
4	93±3.4g	96±1.9c	96±3.3c	95±3.5e	96±3.4d	95±4.4b	96±4.3c	96±4.0b	97±2.7a	96±3.1b
5	95±8.6e	95±1.9c	96±3.8c	98±2.4f	99±2.4a	96±3.5a	95±4.4d	96±4.3b	96±2.3b	97±3.6a
6	98±1.8b	96±2.9c	97±3.8b	97±2.5g	96±3.5d	96±3.3a	93±3.3e	94±2.9d	97±2.2a	94±4.6d

Keterangan: Superskip yang berbeda dalam kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

Hasil penelitian yang telah dilakukan, maka diperoleh rata-rata persentase abnormalitas spermatozoa sapi bali dengan penambahan antioksidan likopen buah tomat dengan metode *swim up* pada LA dan LB tercantum pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-Rata Dan Standar Deviasi Persentase Abnormalitas Spermatozoa Sapi Bali dengan Penambahan Antioksidan *Likopen* Buah Tomat pada LA dan LB.

Penyimpanan (Hari)	Lapisan									
	Atas					Bawah				
	0%	5%	10%	15%	20%	0%	5%	10%	15%	20%
0	1.2±1.5g	5.0±3.0a	2.2±2.4f	3.5±3.5d	2.8±1.8d	4.3±5.8e	2.0±2.0g	4.8±3.5b	4.8±2.8b	4.2±4.6d
1	3.5±2.1d	3.2±2.1e	2.8±2.6e	5.0±3.3a	2.2±0.6f	4.8±5.1b	2.2±2.0f	2.2±1.9e	2.8±1.9g	2.8±1.9g
2	6.3±5.8b	2.3±2.1f	3.2±5.0c	3.8±3.2c	2.5±2.4e	5.2±4.3a	2.7±2.3e	4.2±2.8c	3.3±3.0f	5.3±4.6b
3	2.2±2.0f	2.3±2.0f	4.3±2.1a	5.0±2.7a	4.8±5.7a	4.5±3.2d	4.3±3.8c	4.8±5.5b	6.5±4.4a	4.7±3.5c
4	7.2±3.4a	4.5±1.9c	4.0±3.3b	4.8±3.5b	4.3±3.4b	4.7±4.4c	3.8±4.3d	4.2±4.0c	3.3±2.7e	4.3±3.1e
5	4.7±8,6.c	4.8±1.9b	3.2±3.6c	2.5±2.4f	1.0±2.4g	3.7±3.5g	5.3±4.4b	3.8±4.3d	4.2±2.3c	3.5±3.6f
6	3.0±2.0e	4.2±2.9d	3.0±4.0d	2.7±2.5e	3.8±3.5c	4.0±3.0f	6.8±3.3a	6.0±3.0a	3.5±2.2d	6.2±4.6a

Keterangan: Superskip yang berbeda dalam kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

Hasil analisis varians menunjukkan, bahwa penambahan antioksidan *likopen* buah tomat tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ($P > 0,05$) terhadap penurunan jumlah morfologi normal.

Dalam penelitian normalitas spermatozoa pada Tabel 1, menunjukkan bahwa data yang diperoleh berfluktuasi. Hal ini dapat dijelaskan bahwa waktu penyimpanan spermatozoa dengan metode *swim up* dapat menyaring dengan baik spermatozoa dengan morfologi normal. Kelima perlakuan ini tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna. Hal ini membuktikan bahwa proses penyimpanan maupun dosis yang berbeda pada metode *swim up* dapat meminimalkan kerusakan mekanik, mengurangi traumatik spermatozoa. Hasil analisis varians menunjukkan, bahwa penambahan antioksidan *likopen* buah tomat dan pemisahan dengan metode *swim up* tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap peningkatan abnormalitas spermatozoa.

Dalam penelitian abnormalitas spermatozoa pada Tabel 2, data yang diperoleh memperlihatkan hasil yang berfluktuasi. Rata-rata persentase abnormalitas spermatozoa pada LA dan LB dengan penambahan antioksidan *likopen* buah tomat pada semua perlakuan sekitar 2%. Hal ini dapat dijelaskan bahwa perlakuan dosis maupun penyimpanan spermatozoa dengan metode *swim up* tidak membahayakan spermatozoa dan terbukti bahwa hanya sedikit spermatozoa abnormal dan masih banyak spermatozoa yang normal. Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Astuti (2017) menyatakan penggunaan sari buah tomat-kuning telur-madu sebagai pengencer terhadap kualitas spermatozoa sapi bali (*Bos sondaicus*) berpengaruh terhadap abnormalitas spermatozoa sapi Bali setelah pendinginan, penggunaan sari buah tomat-kuning telur-madu pada konsentrasi 20 % menghasilkan persentase motilitas, persentase hidup dan abnormalitas yang terbaik setelah penyimpanan hingga waktu pengamatan jam ke-8.

Menurut Barth dan Oko (1989), abnormalitas akan dianggap serius apabila abnormalitas primer mencapai 18-20% karena dapat menyebabkan penurunan fertilitas. Jumlah spermatozoa yang abnormal pada spermatozoa sapi bali hasil penelitian ini termasuk sedikit, hal ini disebabkan ternak yang digunakan merupakan sapi yang telah terlatih untuk ditampung semennya, selain itu juga sistem manajemen pakan dan *handling* terhadap spermatozoa sudah baik. Teknik penampungan semen akan mempengaruhi kualitas semen yang dihasilkan. Hewan yang belum terbiasa untuk ditampung semennya akan memperlihatkan abnormalitas primer spermatozoa yang tinggi. Persentase abnormalitas spermatozoa pada sapi berbeda-beda pada setiap peneliti. Hal ini dapat disebabkan oleh perbedaan dalam teknik pengumpulan, penanganan semen, *breed* dan kualitas hewan (Toelihere, 1993). Menurut Bearden dan Fuquay (1980), meningkatnya jumlah spermatozoa abnormal menyebabkan progresif motilitas menurun. Tidak ada perbedaan yang nyata antara level pentoksifilin namun ada perbedaan yang nyata antara spermatozoa lapisan atas (6,71%) dan lapisan bawah (16,08%). Secara umum prosentase abnormalitas pada keempat perlakuan masih tergolong rendah dan masih dalam kisaran normal, karena masih di bawah 20%. Hasil tersebut sesuai dengan pendapat Toelihere (1981), bahwa kelainan morfologi di bawah 20% masih dianggap normal.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan, penambahan antioksidan *likopen* buah tomat dan pemisahan dengan metode *swim up* tidak memberikan pengaruh terhadap normalitas dan abnormalitas spermatozoa, namun tidak memberikan efek negatif pada spermatozoa sapi bali.

Referensi

Astuti, M.E. (2017). Pengaruh Penambahan Sari Buah Tomat (*Solanum lycopersicum*) Sebagai Pengencer Alami Terhadap Kualitas Penyimpanan Spermatozoa Sapi Bali (*Bos sondaicus*). *Jurnal Bionature*. 18 (2). 129-139.

- Barth AD and Oko RJ. (1989). *Abnormal Morphology of Bovine Spermatozoa*. Iowa State University Press. Iowa.
- Bearden, J.H. and W.J. Fuquay. (1980). *Applied animal Reproduction*. Mississippi State University. Resto publishing Company, Inc A Prentice Hall Company Reston Virginia.
- Gordon, I. (1996). *Laboratory production of cattle embryos*. Biotechnology in Agriculture, 11.1. Gordon (Editor) CAB International. Wallingford.
- Johnson, L. A. (1996). *Gender preselection in mammals: an overview*. DTW *Dutsch Tierarztl Wochenschr* 103: 288-291.
- Kartasudjana, R. (2001). *Tehnik Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Jakarta. Departemen Pendidikan Nasional Proyek Pengembangan Sistem dan Standar Pengolahan.
- Maxwell WMC and Waston. (1996). *Recent Progres in the Preservation of Ram Semen, Anim Reprod Sci* 42, 55-65
- Pane, I. (1991). *Produktivitas dan breeding sapi Bali*. *Prosiding Seminar Nasional Sapi Bali*. 2-3 September 1991. Fakultas Peternakan Universitas Hassanudin. Ujung Pandang.
- Pegorago, L.M.C, J.M. Thruad, B. Geerin. (1998). *Comparison of sex ratio and cell number of IVM-IVF bovine blastocysts co-cultured with bovine oviduct epithelial cells or with vero cells*. *Theriogenology* 49: 1579-1590.
- Schuler P. (1990). *Natural Antioxidant Exploited Comercially*. Di dalam: *Food Antioxidants*. Husdont BJF, editor. New York. Elsevier Applied Science.
- Toelihere, M.R. (1993). *Inseminasi Buatan pada Ternak*. Angkasa, Bandung.
- Toelihere, M. R. (1981). *Fisiologi Reproduksi pada Ternak*. Angkasa. Bandung.

Syuhriatin	Mahasiswa Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Al-Azhar E-mail: syuhriatins@gmail.com
-------------------	--