

## **Analisis Normalitas dan Abnormalitas Spermatozoa Kambing Peranakan Etawa (*Capra aegagrus hircus* L.) Sebelum dan Sesudah Fase Pembekuan**

### *The Spermatozoa Normality and Abnormality Analysis of Etawa crossbred Goat (*Capra aegagrus hircus* L.) Before and After Freezing Phase*

Moh. Agus Zakaria<sup>1 \*</sup>, Hari Santoso<sup>2 \*\*</sup>, Hasan Zayadi<sup>3</sup>

<sup>123</sup> Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Malang, Indonesia

#### **ABSTRAK**

Salah satu usaha untuk meningkatkan kualitas kambing lokal agar mempunyai nilai keunggulan pada genetiknya dilakukan perhitungan jumlah abnormalitas dalam spermatozoa. Spermatozoa abnormal dapat menghambat terjadinya fertilisasi apabila jumlah abnormalitas begitu besar. Penelitian ini bertujuan menganalisa pengaruh pembekuan terhadap jumlah abnormalitas dan normalitas spermatozoa kambing Peranakan Etawa (PE) di Balai Besar Inseminasi Buatan Singosari Malang. Metode pengambilan sampel spermatozoa dengan menampung pada AV (*Artificial Vagina*), selanjutnya diamati dibawah mikroskop. Spermatozoa segar dan spermatozoa PTM (*Post thawing motility*) dibuat ulasan di atas objek glass dan dilakukan pewarnaan menggunakan eosin. Analisis menggunakan uji t *Paired Sample t-test* dengan 2 kelompok sampel yang saling berhubungan. Hasil penelitian  $t_{hit} = -0,346$  ;  $t_{(0,025)} = -2,306$   $t_{hitung} < t_{(0,025)}$  artinya  $H_0$  diterima artinya tidak ada perbedaan yang signifikan antara spermatozoa sebelum pembekuan dan sesudah pembekuan. Dari penelitian ini bahwa pembekuan tidak menaikkan jumlah abnormalitas spermatozoa kambing Peranakan Etawa.

**Kata kunci:** spermatozoa kambing PE normal, spermatozoa abnormal, spermatozoa beku.

#### **ABSTRACT**

*A effort for improving the quality of local goats in order to have superior values in their genetics is to calculate the number of abnormalities in spermatozoa. The abnormal spermatozoa can inhibit fertilization if the amount of abnormality is so large. This study aim was to analyze the effect of freezing on the number of abnormalities and normality of spermatozoa of Etawa crossbred goats at the Insemination Center of Singosari in Malang. The sampling spermatozoa by floating on AV (Artificial Vagina), then observed under a microscope. The fresh spermatozoa and Post thawing motility spermatozoa were made reviews on the glass object and stained using eosin. The analysis uses the paired sample t-test with two interconnected sample groups. The results of the study were = - 0.346; t (0.025) = -2.306  $t_{hitung} < t_{(0,025)}$  means that  $H_0$  is accepted, meaning that there is no significant difference between spermatozoa before freezing and after freezing. From this study that freezing did not increase the number of spermatozoa abnormalities of the Etawa crossbred goat.*

**Keywords:** normal spermatozoa of Etawa crossbred, abnormal spermatozoa, frozen Spermatozoa

---

<sup>\*</sup>) Moh. Agus Zakaria, Jurusan Biologi FMIPA UNISMA, Jl. MT Haryono 193, Malang 65144 Telp. 089663287107email: maguszakaria1@gmail.com

<sup>\*\*</sup>) Drs. H. Hari Santoso, M.Biomed, Jurusan Bologi FMIPA UNISMA, Jl. MT Haryono 193, Malang 65144 Telp. 082331449560 Email: [Harisantoso.m.biomed@gmail.com](mailto:Harisantoso.m.biomed@gmail.com)

Diterima Tanggal 29 Juli 2019 – Dipublikasikan Tanggal 25 Januari 2020

## Pendahuluan

Inseminasi buatan (IB) merupakan salah satu teknologi yang digunakan untuk meningkatkan kualitas hewan ternak. Salah satunya meningkatkan kualitas kambing lokal agar mempunyai nilai keunggulan pada genetiknya. Salah satu diantaranya kambing peranakan etawa, dimana kambing ini tergolong dalam katagori ternak potong berkualitas baik dengan morfologi bertubuh panjang dan mempunyai postur tubuh yang tinggi. Meningkatkan produktifitas hewan ternak khususnya kambing peranakan etawa dapat dilakukan dengan langkah-langkah perbaikan menejemen dan tatakelola pemilihan indukan kambing yang unggul yang sesuai dengan SK Menti Pertanian Nomor 695/Kpts/PD. 410/2/2013, guna melestarikan dan memanfaatkan berkelanjutan rumpun kambing [1].

Langkah- langkah yang perlu diperhatikan dalam inseminasi buatan adalah pengujian spermatozoa berkualitas secara makroskopis dan mikroskopis, motilitas, viabilitas, normalitas dan abnormalitas. Dari beberapa macam pengujian tersebut jumlah normalitas dan abnormalitas spermatozoa merupakan salah satu faktor yang dapat mengetahui bahwa spermatozoa yang dihasilkan adalah spermatozoa yang benar-benar baik dan berkualitas. Selain itu jumlah abnormalitas dalam spermatozoa dapat memberikan informasi bahwa semen yang diproduksi dapat dikategorikan dalam spermatozoa yang berkualitas, sel sperma yang abnormal dapat menghambat terjadinya fertilisasi apabila jumlah abnormalitas dalam spermatozoa baik dalam spermatozoa segar, cair dan beku begitu besar. Dalam balai inseminasi buatan tentunya memiliki standart nilai abnormalitas yang bermacam-macam seperti halnya di Balai inseminasi buatan Singosari memiliki standart nilai jumlah abnormal tidak lebih dari >10% dari semen yang diproduksi. Perhitungan jumlah normalitas dan abnormalitas spermatozoa dilakukan untuk mengevaluasi beberapa sampel semen segar (semen yang terejakulasi), semen cair dan semen beku (PTM) hewan ternak pada pejantan unggul yang sudah diseleksi.

Penelitian yang akan dilaksanakan diharapkan dapat memberikan beberapa informasi jumlah normalitas dan jumlah abnormalitas spermatozoa atau semen kambing PE dalam teknologi IB (inseminasi buatan) sebelum dilakukan proses pembekuan dan sesudah dilakukan proses pembekuan agar dalam proses produksi semen tetap terjaga kualitas awal produksi hingga akhir produksi.

Berdasarkan uraian latar belakang tersebut peneliti melakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui jumlah abnormalitas dan normalitas spermatozoa kambing PE dan pengaruh pembekuan terhadap spermatozoa.

## Material dan Metode

### Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah semen segar (semen yang terejakulasi), semen beku (PTM), pewarna eosin dan alcohol 95%.

dapun peralatan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, Mikroskop electron, slide warmer, spuit, penghitung elektrik, tabung reaksi, objek glass, mikropipet dan camera handpone.

### Metode

Penelitian ini menggunakan metode rancangan *one group pretest* dan *posttest* perbandingan dua rerata dan dua populasi sebelum pembekuan dan sesudah pembekuan. Jumlah ulangan masing-masing populasi adalah 10 spermatozoa kambing peranakan etawa.

### Cara Kerja

**Pengambilan Sampel (Semen Kambing Peranakan Etawa):** Semen ditampung menggunakan Av (*articial vagina*) vagina buatan yang ditampung dalam laboratorium penampungan di BBIB Singosari. Sampel yang digunakan yaitu spermatozoa kambing PE (Semen segar dan semen beku).

**Proses Pembekuan Spermtozoa:** Semen segar yang telah diuji kualitas dan memenuhi syarat kemudian dilakukan proses pengencer dengan menggunakan pengencer *Andromed* dan *Aquadest*

dengan perbandingan 1 : 4. Dari proses inilah dilakukan tahap pengujian spermatozoa segar dengan standart nilai motilitas 55%. Kemudian dilakukan proses pembekuan dengan tahap *Pree-freezing* dan *Freezing*. Proses *prefreezing* dan *freezing* adalah proses pembekuan awal semen cair dalam straw. Dengan proses penurunan suhu dari 4-5 °C menjadi suhu -140°C sampai mencapai suhu -196°C dengan memasukkan straw dalam digit cool yang berisi nitrogen cair.

**Pembuatan Preparat Ulas dan Pewarnaan Sampel spermatozoa:** Pembuatan Preparata ulasan dilakukan dengan mengambil 1 tetes semen segar dan semen beku. Kemudian ditambahkan pewarna Eosin dengan perbandingan sama yaitu 1:1 dengan 1 tetes semen segar maupun semen beku (*Post Thawing Motility*). Preparat ulas yang sudah jadi dikeringkan terlebih dahulu kemudian bisa dilakukan pengamatan morfologi sel atau perhitungan normalitas dan abnormalitas semen segar dan semen beku.

**Pengamatan Morfologi Spermatozoa Sebelum dan Sesudah Pembekuan:** Pengamatan morfologi dan perhitungan persentase normalitas dan abnormalitas spermatozoa dilakukan di daerah kepala, leher dan ekor. Jumlah spermatozoa yang diamati morfologinya sebanyak 200 sel spermatozoa pada tiap preparat dengan mengamati 3 lapang pandang yang berbeda dengan menggunakan mikroskop (Olympus CH20) dengan perbesaran 400x dan 1000x dan didokumentasikan.

**Pemeriksaan Normalitas dan Abnormalitas Spermatozoa Kambing PE:** Evaluasi perhitungan yang dilakukan terhadap spermatozoa adalah bentuk abnormal (jumlah abnormal yang dijumpai) dan jumlah normal dalam 3 lapang pandang dengan menggunakan alat penghitung elektrik, Kemudian dibandingkan dengan jumlah spermatozoa yang ada dalam lapang pandang dan dinyatakan dalam persen. Selanjutnya dilakukan pengujian yang sama terhadap sampel semen *Post Thawing*. Persentase jumlah normalitas dan abnormalitas spermatozoa dapat dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Abnormalitas spermatozoa (\%)} = \frac{P}{Q} \times 100\%$$

Keterangan :

P = Spermatozoa abnormal yang terhitung

Q = Total spermatozoa yang dihitung

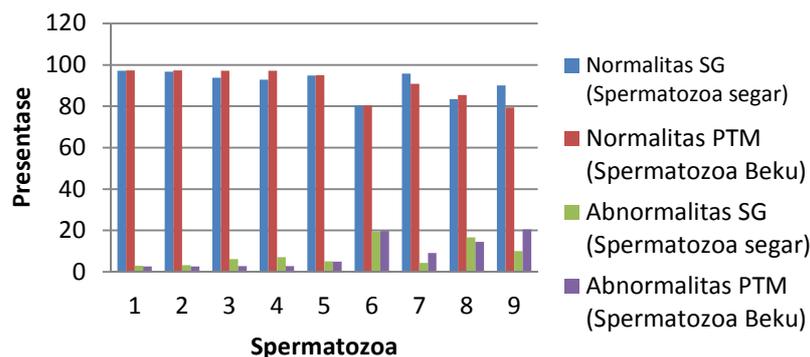
Semua jenis abnormalitas yang ditemukan diklasifikasi dan didokumentasikan. Tingkat abnormalitas spermatozoa dikelompokkan menjadi 0-3 %, >3-6% (rendah), >6-9% (sedang), >9% (tinggi) (Riyadhi, 2010).

**Analisis Data:** Setelah diperoleh data pretest dan posttest maka langkah selanjutnya dalam proses penelitian adalah uji normalitas data, uji homogenitas data dan langkah akhir yaitu analisa data menggunakan uji t-test (*Paires sampler t-test*) dengan membandingkan antara 2 kelompok sampel yang saling berhubungan. Dan menggunakan uji analisis yaitu homogenitas data dengan Varians F (0,05) dan uji t –test serta penentuan hipotesis apabila nilai  $t_{hitung}$  lebih besar dari nilai  $t_{tabel}$  ( $t_{hitung} > t_{tabel}$ ) dua sisi dan signifikansi lebih kecil dari ( $p \leq 0,025$ ) [2].

## Hasil dan Diskusi

Dalam penelitian ini dilakukan analisis jumlah abnormalitas dan normalitas spermatozoa segar dan spermatozoa beku (*Post Thawing Motility*) kambing PE di Balai Besar Inseminasi Buatan Singosari Malang. Kualitas semen segar sangat menentukan layak tidaknya semen tersebut untuk dilakukan proses pengolahan. Hasil penelitian menunjukkan warna semen yang ditampung adalah putih susu atau krem. Hasil ini sesuai dengan pendapat Indriani dkk [3], yang menyatakan bahwa warna semen domba dan kambing adalah putih susu atau krem. Semen kambing dalam kondisi segar memiliki nilai konsentrasi yang sangat tinggi dibandingkan dengan konsentrasi semen hewan ternak lainnya, semen kambing atau domba memiliki nilai konsentrasi antara 2000-3000 (juta/ml) dengan volume ejakulat antara 0,8-1,2 ml [4].

**Diagram Persentase Jumlah Abnormalitas dan Normalitas Spermatozoa:** Dalam kondisi segar pengujian abnormalitas dilakukan dengan membuat preparat ulasan dengan mengambil sedikit dari satu tetes sampel semen kemudian ditambahkan dengan pewarna eosin diaduk diatas objek glass kemudian ditarik hingga membuat ulasan. Hal ini dilakukan secara berulang-ulang hingga mendapatkan ulasan yang maksimal, kemudian dilakukan pengamatan dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x dan dilakukan perhitungan persentase normalitas dan abnormalitas. Adapun diagram dari hasil penelitian perhitungan jumlah spermatozoa normalitas (Pretest dan posttest) dan jumlah abnormalitas (Pretest dan posttest) adalah sebagai berikut:



Gambar 1. Persentase jumlah abnormalitas dan normalitas Spermatozoa.

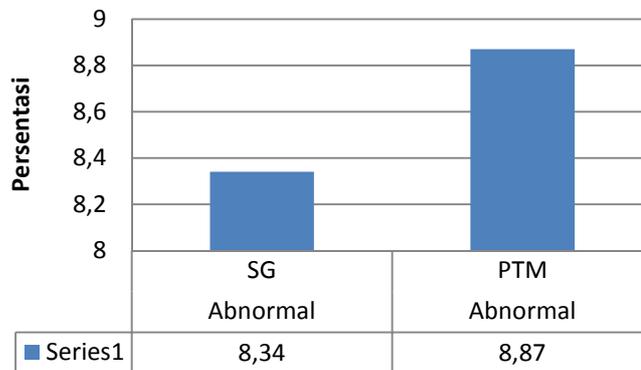
Berdasarkan diagram jumlah normalitas dan abnormalitas semen segar (semen yang terejakulasi) dan semen beku (PTM) Post thawing motility diketahui jumlah normalitas tertinggi terdapat pada semen 1 dan semen 2 dengan besar nilai persentase 97,1% pada semen SG (terejakulasi) untuk nilai persentase semen PTM sebesar 97,3%. Dengan rata-rata normalitas semen (SG dan PTM) sebesar 91,6% dan 91,2%. Adapun rata-rata jumlah semen yang abnormal baik semen SG (terejakulasi) maupun semen beku (PTM) sebesar 8,3% (SG) dan 8,8% (PTM). Kedua data tersebut abnormalitas semen segar (terejakulasi) dan semen beku (PTM) dapat dikelompokkan kedalam tingkat abnormalitas spermatozoa sedang yaitu dengan nilai skor abnormalitas >6-9% sedang [5].

Semen beku (PTM) post thawing motility merupakan hasil akhir dari produksi semen dalam IB. Berdasarkan hasil pengamatan yang telah dilakukan, beberapa faktor yang dapat mempengaruhi abnormalitas spermatozoa diantaranya disebabkan oleh perbedaan tekanan osmosis saat melakukan pengenceran kemudian terjadi *cold shock* pada saat proses pendinginan yang menyebabkan ekor bengkok atau melingkar dan kepala putus pada spermatozoa, selain itu putusnya ekor spermatozoa disebabkan oleh proses pembuatan preparasi saat pembuatan ulasan.

**Abnormalitas dan Normalitas Semen Segar (Terejakulasi) dan Semen Beku PTM (Post Thawing Motility):** Berdasarkan tabel output “paired samples t test” diketahui nilai signifikansi sebesar 0,738 dengan df sebesar 8 dan nilai signifikansi  $0,738 > 0,025$  maka  $H_0$  diterima dan  $H_a$  ditolak. Kemudian selain membandingkan antara nilai signifikansi (sig) dengan probabilitas 0,025 hasil selanjutnya yakni membandingkan nilai dari  $t_{hitung}$  dengan  $t_{(0,025)}$  sebesar 0,346  $t_{hitung}$  dan  $t_{(0,025)}$  2,306 dengan hasil yang sama yaitu  $H_0$  diterima dan  $H_a$  ditolak. Artinya dari hasil analisis menggunakan spss dinyatakan tidak ada perbedaan yang signifikan (tidak ada pengaruh perlakuan terhadap spermatozoa kambing peranakan etawa).

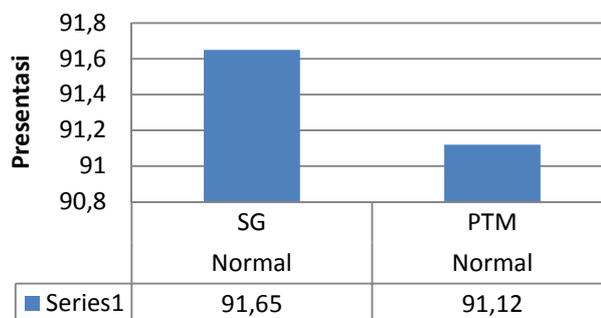
Dalam penelitian ini ditemukan jumlah presentase sperma abnormal dengan jumlah  $\leq 10\%$  nilai ini sesuai dengan standart IB dan dapat dinyatakan mempunyai kualitas baik. Kemudian sebaliknya apabila dalam presentase jumlah spermatozoa ditemukan banyak nilai abnormal maka kualitas semen

tersebut dapat dianggap jelek. Abnormalitas spermatozoa pada kambing umumnya berkisar antara 5-20% dapat dikatakan berkualitas baik. Hal ini sesuai dengan hasil pada penelitian yang telah dilakukan yaitu spermatozoa pada kambing Peranakan Etawa (PE) di Balai Besar Inseminasi Buatan Singosari. Dalam rata-rata grafik terdapat peningkatan dari sebelum perlakuan semen segar dan setelah perlakuan semen beku dibuktikan dengan hasil rentang nilai 0,53%.



Gambar 2. Rataan presentase abnormalitas semen segar dan semen beku (PTM) Post Thawing Motility.

Dalam diagram rata-rata jumlah normalitas antara semen segar dan semen beku didapatkan selisih nilai presentasi 0,53%, selisih ini juga yang dapat mempengaruhi bahwa tidak adanya pengaruh dari perlakuan yang dilakukan selama penelitian. Dari hasil penelitian ini jumlah normalitas spermatozoa berada dikisaran 90% jumlah presentase ini tergolong dalam katagori bernilai tinggi. Untuk lebih jelas dapat dilihat dalam tabel dibawah ini:



Gambar 3. Rataan presentase normalitas semen segar dan semen beku (PTM) Post Thawing Motility.

Berdasarkan analisis data menggunakan uji paired sample t-test normalitas semen segar (semen yang terejakulasi) dan semen beku (PTM) menunjukkan hasil nilai probabilitas  $0,736 > 0,025$ . Berdasarkan nilai  $t_{hitung}$  dengan  $t_{(0,025)}$   $-0,349 < -2,306$  dapat diartikan  $H_0$  diterima dan  $H_a$  ditolak artinya tidak ada perbedaan antara sebelum perlakuan semen segar (semen yang terejakulasi) dan sesudah perlakuan (Semen beku) PTM post thawing motility. Jumlah normalitas semen segar dan semen beku didapatkan dari hasil 100% jumlah normalitas kemudian dikurangi dengan jumlah abnormalitas dan menghasilkan presentasi jumlah normalitas.

Jumlah abnormalitas dan jumlah normalitas spermatozoa segar dan beku tidak ada pengaruh pembekuan yang signifikan, akan tetapi tujuan daripada pembekuan merupakan memberhentikan kehidupan sel sperma tanpa mematikan daripada fungsi sel sperma tersebut. Kemudian pembekuan

merupakan tahapan yang harus dilakukan dalam setiap balai inseminasi buatan untuk memenuhi kebutuhan teknologi IB agar selama masa penyimpanan sel-sel sperma tersebut tidak mengalami penurunan daya hidup secara cepat maka dibutuhkan penambahan nutrisi-nutrisi dalam berbagai macam pengencer baik menggunakan tris kuning telur maupun pengencer komersial (Andromed).

Salah satu faktor yang menyebabkan kerusakan abnormal yaitu faktor lingkungan dengan faktor ini meliputi suhu pada lingkungan, suhu dalam skrotum kambing PE dan suhu dalam AV (*Artificial Vagina*) vagina buatan. Perubahan suhu ekstrim dapat juga berpengaruh terhadap hasil penampungan spermatozoa, suhu yang tinggi dan kelembaban yang rendah dapat menjadi penyebab kambing mengalami heat stress dan meningkatkan abnormalitas pada spermatozoa yang dihasilkan. Faktor yang kedua yaitu faktor genetik faktor ini merupakan abnormalitas spermatozoa yang disebabkan oleh faktor genetik seperti halnya kelainan terhadap akrosom, kepala, *midpiece* dan kelainan pada ekor spermatozoa. Kelainan ini kebanyakan terjadi sebelum spermatozoa ditampung (abnormalitas primer). Dan yang ketiga merupakan faktor hormonal faktor ini berperan pada proses spermatogenesis tidak jauh dengan adanya peran hormon *Testosteron* yang membantu pematangan spermatozoa dalam epididimis. Proses spermatogenesis pada kambing dan domba adalah 49 hari (3 minggu) untuk mencapai hasil produksi semen yang berkualitas baik.

Jenis spermatozoa yang abnormal juga dapat dilihat dari masing-masing sampel semen segar maupun semen post thawing motility. Berdasarkan penelitian jenis yang abnormal yang paling tinggi dan sering ditemukan adalah jenis abnormal kepala putus dan ekor melengkung *mid piece* hal ini ditemukan pada saat pembuatan preparat ulasan atau abnormalitas pada saat ejakulasi dapat dikatakan jenis abnormalitas sekunder. Kemudian jenis abnormalitas primer juga ditemukan seperti jenis abnormal *Acrosomal*, *Acrosomal defisiensi*, *Microcephalus*, *Nuclear abnormaliti*, *Round head*, *Narrow at the base*, dan *Elegated postacrosomal region*. Pada penelitian ini *Detached head* merupakan kelainan dimana kepala spermatozoa terputus dengan ekor, biasanya jenis kelainan ini tidak banyak ditemukan dalam ejakulat, melainkan berhubungan erat dengan faktor herediter (pewaris) selain itu jenis abnormal ini dapat menyebabkan oleh faktor buruk yang mempengaruhi pematangan spermatozoa. Kelainan ini biasanya ditemukan dalam jumlah kecil (<10%) dan sering dihubungkan dengan hipoplasia testis [6].

## Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan di Balai Besar Inseminasi Buatan Singosari selama kurang lebih 1 bulan dapat diambil kesimpulan. Jumlah abnormalitas spermatozoa segar dan spermatozoa setelah pembekuan (semen beku (PTM) Post Thawing Motility) mencapai jumlah presentase 6 – 9% dari jumlah 100% normalitas spermatozoa dan dinyatakan dalam analisis uji simple paired t-test bahwa nilai probabilitas abnormalitas spermatozoa  $0,738 > 0,025$  maka tidak ada pengaruh pembekuan terhadap kedua sampel tersebut. Pembekuan terhadap spermatozoa menyebabkan terjadinya *Cold shock* karena perubahan tekanan osmosis dan pengeluaran ion-ion serta dehidrasi yang hebat menyebabkan sel mengkerut dan akan merusak membran sel akan tetapi pembekuan spermatozoa berfungsi untuk memberhentikan fungsi dari pada sel sperma tanpa mematikan fungsinya.

## Ucapan Terima Kasih

Terimas kasih Instansi dan kepala LAB BBIB Singosari.

## Daftar Pustaka

- [1] Batubara, A., Nasution, S., Subanriyo, 2016. *Kambing Peranakan Etawah (PE)*. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. IAARD Press. Jakarta.

- [2] Sugiyono. 2016. *Metode Penelitian Pendidikan (Pendekatan Kuantitatif, Kualitatif dan R&D)*. Alfabeta. Bandung.
- [3] Indriani, Susilawati, T. Dan Wahyuningsih, S. 2013. Daya Hidup spermatozoa sapi Limousin yang dipreservasi dengan metode water jacket dan free water jacket. *Jurnal Veteriner*, 14(3), 379386.
- [4] Ax R. L., Dally, M., Didion, B. A., Lenz, R. W., Love, C. C., Varner, D. D., Hafez, and Bellin, M. E. 2008. *Semen evaluation in farm animal reproduction*. 7th eds. Hafez, B. & Hafez. E. S. E. Baltimore
- [5] Riyadhi, M. 2010. *Jenis dan Tingkat Abnormalitas Primer pada Spermatozoa Sapi Pejantan di Beberapa Balai Inseminasi Buatan di Indonsia*. Tesis. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- [6] Purwantara, B., Arifiantini, RI. and Riyadhi, M. 2010. Sperm morphological assesments of Frisien Holland bull semen collected from three Artificial Insemination Centers in Indonesia. *J. Indonesian Trop. Anim. Agric* 35 (2): 90-94.