

## Pengaruh Penambahan Kafein pada Sperma Kauda Epididimis Sapi Bali Pasca Thawing terhadap Jumlah Oosit yang Terfertilisasi

Oktora Dwi Putranti<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Khairun

\*Email: [oktora.unkhair@gmail.com](mailto:oktora.unkhair@gmail.com)

Received : 16 Mei 2024  
Accepted : 14 Juli 2024  
Available online : 15 Juli 2024

### ABSTRACT

The research "The effect of adding caffeine to cauda epididymal sperm of Bali cattle after thawing on the number of fertilized oocytes has been carried out for 10 months. Testicular collections were taken from the Cibinong Slaughterhouse (RPH), the process of freezing epididymal sperm was carried out in the Reproductive Rehabilitation Unit (URR) laboratory, Department of Reproduction and Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Bogor Agricultural Institute, post-thawing frozen sperm analysis was carried out in the Reproduction, Breeding and Animal Cell Culture, LIPI Cibinong Biotechnology Research Center and the in vitro fertilization (IVF) process were carried out at the Cipelang Bogor Livestock Embryo Center (BET). The aim of this study was to measure the fertility of cauda epididymal sperm after thawing with the addition of caffeine on the success of in vitro fertilization (IVF). This research method is the collection of cauda epididymal sperm at the slaughterhouse. Analysis of cauda epididymis sperm quality after thawing was carried out by adding caffeine T0 (0 mg/ml), T2 (2 mg/ml), T4 (4 mg/ml), and T6 (6 mg/ml) with 4 repetitions. The main parameter analyzed is the fertility of cauda epididymal sperm using in vitro fertilization. The design used was a one-way Completely Randomized Design (CRD) and continued with the Tukey-W-Procedure test with SPSS 16. The results showed that cauda epididymal sperm fertility at T2 and T4 was significantly higher ( $P < 0.05$ ) compared to T0. and T6. The conclusion of this study is that the success of in vitro fertilized oocytes in cauda epididymal sperm after thawing with the addition of 4 mg/ml caffeine was 37.50%.

**Keywords:** cauda epididymis, fertilization, oocyte

### ABSTRAK

Penelitian "Pengaruh penambahan kafein pada sperma kauda epididimis sapi Bali pasca thawing terhadap jumlah oosit yang terfertilisasi telah dilakukan selama 10 bulan. Koleksi testis diambil dari Rumah Potong Hewan (RPH) Cibinong, proses pembekuan sperma epididimis dilakukan di laboratorium Unit Rehabilitasi Reproduksi (URR), Departemen Reproduksi dan Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, analisis sperma beku pasca thawing dilaksanakan di laboratorium Reproduksi, Pemuliaan dan Kultur Sel Hewan, Puslit Bioteknologi LIPI Cibinong dan proses fertilisasi in vitro (IVF) dilaksanakan di Balai Embrio Ternak (BET) Cipelang Bogor. Tujuan penelitian ini untuk mengukur fertilitas sperma kauda epididimis pasca thawing dengan penambahan kafein pada keberhasilan in vitro fertilisasi (IVF). Metode penelitian ini adalah koleksi sperma kauda epididimis di RPH. Analisis kualitas sperma kauda epididimis pasca thawing dilakukan dengan perlakuan penambahan kafein T0 (0 mg/ml), T2 (2 mg/ml), T4 (4 mg/ml), dan T6 (6 mg/ml) dengan 4 kali ulangan. Parameter utama yang dianalisis adalah fertilitas sperma kauda epididimis secara in vitro fertilisasi. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) satu arah dan dilanjutkan uji Tukey-W-Procedure dengan SPSS 16. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fertilitas sperma kauda epididimis pada T2 dan T4 berbeda nyata lebih tinggi ( $P < 0,05$ ) dibandingkan dengan T0 dan T6. Kesimpulan penelitian ini adalah keberhasilan oosit terfertilisasi secara in vitro pada sperma kauda epididimis pasca thawing dengan penambahan kafein 4 mg/ml adalah 37,50%.

**Kata kunci:** fertilisasi, kauda epididymis, oosit

## PENDAHULUAN

Sapi Bali jantan dengan kualitas semen yang unggul, yang mati secara akut akibat terserang JD, kondisi tubuhnya masih bagus. Hal ini sangat disayangkan, sehingga perlu penanganan secara khusus terhadap ternak tersebut dengan penyelamatan atau memanfaatkan organ reproduksinya yaitu testis. Testis merupakan tempat produksi sperma, di mana sperma merupakan sel yang berperan penting dalam fertilisasi. Sperma dalam testis sapi yang telah mati apabila diproses lebih lanjut maka masih dapat digunakan. Sperma dalam epididimis masih memiliki kualitas yang baik *postmortem* (PM) apabila masih tersedianya *adenosine tri phosphate* (ATP) yang relatif konstan sebagai sumber energi berkisar antara 8-12 jam PM pada sapi (Sutardi, 1987 dalam Gumilar, 2011). Bagian testis yang mengandung sperma dewasa adalah kauda epididimis. Isolasi sperma dari kauda epididimis yang dilanjutkan dengan proses pembekuan untuk bisa digunakan kembali dalam Inseminasi Buatan (IB), sehingga genetik pejantan unggul tetap bisa dilestarikan dan diharapkan dapat menjaga kualitas atau kemampuannya dalam melakukan fertilisasi sel telur, baik secara *in vivo* maupun *in vitro*.

Penurunan kualitas sperma dapat terjadi selama pembekuan dan penyimpanan, untuk meningkatkan kualitas sperma pasca thawing dibutuhkan *stimulant* untuk merangsang motilitas sperma yang masih hidup saat pembekuan sehingga meningkatkan fertilitas.

Bahan aditif yang dapat digunakan adalah kafein. Kafein merupakan alkaloid yang memiliki aksi sebagai *stimulant* sistem saraf pusat atau *central nervous system* (CNS) dan metabolisme pada manusia. Penelitian selama ini, penambahan kafein dilakukan dalam pengencer sperma hewan untuk meningkatkan motilitas dan fertilitas sperma. Peningkatan motilitas sperma dapat terjadi karena kafein mampu menghambat reseptor adenosine, menghambat aktivitas *phosphodiesterase*, dan pertukaran kalsium *intracellular* (Lamarine, 1998). Mekanisme tersebut berpengaruh terhadap perubahan konsentrasi *intracellular* siklik *adenosine monophosphate* (cAMP) untuk motilitas sperma (Gerhastuti, 2009).

Kualitas sperma akan berpengaruh positif terhadap fertilitas. Proses pembekuan semen beku dan thawing akan mengakibatkan

penurunan motilitas dan viabilitas sperma. Penelitian ini menitikberatkan pada pemberian kafein dalam media pasca thawing, sehingga sperma yang diisolasi dari epididimis setelah dibekukan kualitasnya dapat tetap terjaga.

Hasil penelitian dengan menggunakan isolasi sperma dari epididimis ini diharapkan dapat menjadi solusi bagi ternak jantan yang memiliki kualitas semen yang unggul namun mati karena penyakit infeksi. Diharapkan pula hasil penelitian ini berkontribusi dalam perkembangan peternakan pada umumnya dan ternak langka pada khususnya dalam hal pelestarian sumber daya genetik melalui teknologi *in vitro fertilization* (IVF).

## METODOLOGI

Testis dikoleksi dari 12 ekor sapi Bali jantan. Testis yang sudah dibersihkan dari kulitnya kemudian diklem menggunakan tang arteri pada 4 bagian yaitu korpus, kaput, kauda dan vas deferens. Dimasukkan ke dalam cairan NaCl fisiologis 0,9 % yang telah diberi antibiotik streptomisin 0,1 g/l dan penisilin 0,06 g/l, diletakkan dalam *cool box* yang berisi air hangat dengan temperatur 37°C untuk di bawa ke laboratorium. Kauda epididimis dipisahkan dari testis, sayat jaringan kauda epididimis kemudian hisap menggunakan mikropipet cairan putih pada kauda epididimis letakkan dalam gelas objek dan dianalisis karakteristiknya.

Sperma dengan karakteristik yang baik akan diproses selanjutnya menjadi semen beku dan disimpan dalam nitrogen cair (-196°C). Tahap selanjutnya dilakukan uji fertilitas pada setiap perlakuan kafein T0 (0 mg/ml), T2 (2 mg/ml), T4 (4 mg/ml) dan T6 (6 mg/ml).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Fertilisasi adalah bersatunya sel sperma dan sel telur. Perkembangan awal setelah terjadi fertilisasi yaitu terbentuknya zigot, kemudian akan terjadi pembelahan mitosis sehingga terbentuk dua sel, morula sampai blastosit. Fertilitas sperma kauda epididimis dievaluasi dengan melihat perkembangan zigot 18 jam dan pembelahan sel 36 jam setelah fertilisasi *in vitro* dengan pewarnaan aceto-orcein 1%. Fertilitas sperma kauda epididimis sapi Bali pasca thawing dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 Persentase fertilitas sperma kauda epididimis pasca thawing dengan perlakuan kafein pada 18 jam setelah fertilisasi *in vitro*

| Kafein (mg/ml) | Jumlah oosit | Terfertilisasi (%)         | Tidak terfertilisasi (%) |
|----------------|--------------|----------------------------|--------------------------|
| T0             | 68           | 19,12 (13/68) <sup>b</sup> | 80,88 (55/68)            |
| T2             | 72           | 27,78 (20/72) <sup>a</sup> | 72,22 (52/72)            |
| T4             | 80           | 37,50 (30/80) <sup>a</sup> | 62,50 (50/80)            |
| T6             | 80           | 13,75 (11/80) <sup>b</sup> | 86,25 (69/80)            |

Keterangan: superskrip yang berbeda dalam kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ( $p < 0,05$ ). T0=0mg/ml, T2=2mg/ml, T4=4mg/ml dan T6=6mg/ml.

Hasil uji Lanjut dengan Tukey menunjukkan bahwa persentase fertilitas sperma kauda epididimis sapi Bali pasca thawing pada T4 lebih tinggi ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan T0 dan T6, namun tidak berbeda ( $p > 0,05$ ) dibandingkan dengan T2. Hal ini menggambarkan bahwa kafein dapat meningkatkan fluktuasi  $Ca^{2+}$  pada oosit, yang dimulai saat sperma fusi. Fluktuasi  $Ca^{2+}$  dalam retikulum endoplasmik dikontrol oleh *inositol trifosfat* (IP3). Peningkatan aliran  $Ca^{2+}$  akan terjadi selama fertilisasi sampai terbentuknya pronukleus dan awal pembelahan mitosis zigot (Jones, 2007; Gordon, 2003; Oehninger dan Franken, 2006).

Penambahan kafein pada T6 (6 mg/ml) memiliki efek negatif karena dapat menurunkan fertilitas sperma kauda epididimis pasca thawing yang terlihat pada Tabel 2. Hal ini disebabkan karena pemberian kafein pada T6 (6 mg/ml) menyebabkan tidak terkontrolnya hiperaktivasi motilitas yang akan memicu terjadinya kapasitasi secara cepat, sehingga terlepasnya plasma dan membran luar akrosom (Garner dan Hafez, 2000). Terlepasnya membran akrosom ini menyebabkan sperma tidak mampu fusi ke dalam zona pelusida karena tidak ada enzim *hyaluronidase*. Enzim akrosom yang sudah tidak ada menjadikan sperma sebagai sel tidak berfungsi, karena habisnya energi yang telah digunakan (Elder dan Dale, 2003). Hal ini menyebabkan sperma *immotile* karena terhentinya kontraksi *fibrous* (Soeparna dan Nurholidah, 2014), yang berfungsi untuk regulasi *phosphorilasi* cAMP (Conner dan Barratt, 2006).

## KESIMPULAN

Kesimpulan dari hasil penelitian menunjukkan bahwa keberhasilan oosit yang terfertilisasi secara *in vitro* menggunakan sperma kauda epididimis pasca thawing dengan penambahan kafein 4 mg/ml adalah 37,50%.

## DAFTAR PUSTAKA

- Boediono, A.,Y. Rusiyantono, K. Mohamad, I. Djuwita and Herliantini. (2000). Perkembangan Oosit Kambing Setelah Maturasi, Fertilisasi dan Kultur In Vitro. *Media Veteriner*, 7(4):11-17
- Conner, S.J and Barratt, C.L.R. (2006). Genomic and Proteomic Approaches To Defining Sperm Production and Function: In Jonge and Baratt: *Sperm Cell*. Cambidge University Press.
- Elder, K and Dale, B. (2003). *In Vitro Fertilisation*, Second Edition. Cambridge University Press.
- Garner, D. L and Hafez, E.S. E. (2000). Sperm and Seminal Plasma: in Hafez, B and Hafez, E.S.E : *Reproduction in Farm Animals*. Lippincott Williams & Wilkins. USA. Page; 97-105.
- Gerhastuti, B.C. (2009). Pengaruh Pemberian Kopi Dosis Bertingkat Per Oral Selama 30 Hari Terhadap Gambaran Histologi Ginjal Tikus Wistar. *Karya Ilmiah Fakultas Kedokteran*. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Gordon, I. (2003). *Laboratory Production Cattle Embryos*, 2<sup>nd</sup> Edition. Biotechnology in Agriculture Series, No. 27. CABI Publishing.
- Gumilar, J. (2011). Pengaruh Berbagai Jenis Daging (Ayam, Babi dan Sapi) dan Fase Postmortem (Pada Daging Babi) Terhadap Kualitas Dan Mikrostruktur Surimi (Surimi like material/SLM). *Karya Ilmiah*. Universitas Padjadjaran, Bandung.
- Jones, P. Gottlieb, W and Suarez, S. (2007). Using Caffeine to Hyperactivate Bull Sperm. *The American Biology Teacher*. New York.
- Lamarine, R. J. (1998). Caffeine As An Ergogenic Aid. In Spiller: *Caffeine*. Health Research and studies Center and Sphera Foundation. Los Altos, California. CRC Prss.

- Oehninger, S and Franken, D. (2006). *The Sperm Cell: Testing Sperm Manufacturing Quality: The Sperm-Zona Binding Assay*. Cambridge University Press.
- Soeparna dan Nurcholidah, S. (2014). *Ilmu Reproduksi Ternak*. Institut Pertanian Bogor Press.
- Sukmawati, E. Arifiantini, R.I dan Purwantara, B. (2014). Daya Tahan Sperma Terhadap Proses Pembekuan Pada Berbagai Jenis Sapi Pejantan Unggul. *Jurnal Ilmu Ternak Veteriner* 19(3): 168-175.