

LAPORAN
HASIL PENELITIAN HIBAH BERSAING
TAHUN ANGGARAN 2011



**Efektifitas Krioprotektan Selama Proses Pembekuan Spermatozoa Dengan Metode
Rapid Freezing Terhadap Gambaran sekuen Asam Amino
Semen Sapi Beku Post Thawing**

**Trilas Sardjito, M. Si., Drh.
Dr. Widjiati, MSi., Drh.**

**Dibiayai oleh DIPA Universitas Airlangga, sesuai dengan Surat Keputusan Rektor
Tentang Kegiatan Penelitian Multi Tahun, Pengabdian Kepada Masyarakat Mono
Tahun, dan Pengabdian Kepada Masyarakat Multi Tahun Unjiversitas Airlangga
Tahun Anggaran 2011 Nomor : 844/H3/KR/2011, Tanggal 20 April 2011**

**UNIVERSITAS AIRLANGGA
OKTOBER, 2011**

Efektifitas Krioprotektan Selama Proses Pembekuan Spermatozoa Dengan Metode *Rapid Freezing* Terhadap Gambaran sekuen Asam Amino Semen Sapi Beku Post Thawing

The Effectiveness of Cryoprotectant during the Spermatozoa Freezing Process using Rapid Freezing Method on the Features of the Amino Acid Sequences of Postthawing Frozen Bovine Semen

¹Trilas Sardjito, ²Widjiati, ¹Sri Pantja Madyawati

¹Departement of Veterinary Reproduction, ²Departement of Veterinary Anatomy
Airlangga University Faculty of Veterinary Medicine

ABSTRACT

The purpose of this study was to address the occurrence of mutation (damage) in the spermatozoa DNA due to the freezing processes by optimizing the role of cryoprotectant. The increasing fertility rates of the livestock and increasing number of ruminant livestock have occurred through artificial insemination program. The molecular study is intended to improve the viability and quality of frozen semen for artificial insemination purposes. The significance of this research was to examine the effectiveness of cryoprotectant on the level of DNA damage inflicted on spermatozoa so as to improve the quality of frozen semen. This research is important considering the freezing of spermatozoa becomes an important part of the spermatozoa storage process for artificial insemination purposes. Today the results of the artificial insemination have not been able to support acceleration in the livestock development. Fertilization failure is often encountered in the field. This can be seen from the pregnancy rates after artificial insemination. Many factors cause the failure of pregnancy, one of which is frozen semen quality due to the spermatozoa processing.

This study involved the measurement of motility, viability and concentration of bovine spermatozoa after the freezing process, examination of the integrity of the bovine spermatozoa membranes with Hypoosmotic Swelling Test method, RNA Isolation (NucleoSpin RNA II), RNA Visualization by using 1% agarose, agarose gel electrophoresis, the RNA concentration quantification by using a spectrophotometer, and the examination of DNA mutations by RT PCR. The results showed that bovine sperms derived from the Baluran Limousine and Simental Notoroso cattle can be frozen on the basis of macroscopic examination results and the quality of spermatozoa; results of post-thawing motility met feasibility standards for further examination of the amino acid sequences; cryopreserved sperms showed a significant decrease in DNA quality compared with quality of fresh sperms; concentration of the frozen sperm DNA was lower than fresh spermatozoa. Outcome of the research was to identify the DNA damage in frozen semen so as to optimize the production of frozen semen.

Key words: cryoprotectant, rapid freezing, DNA mutation, spermatozoa

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengatasi terjadinya mutasi (kerusakan) DNA pada spermatozoa akibat proses pembekuan dengan mengoptimalkan peran krioprotektan. Meningkatkan angka fertilitas ternak besar dan populasi ternak ruminasia melalui program inseminasi buatan. Melalui kajian penelitian molekuler dimaksudkan dapat meningkatkan viabilitas dan kualitas semen beku untuk keperluan inseminasi buatan.

Manfaat penelitian ini adalah dengan mengetahui efektivitas krioprotektan terhadap tingkat kerusakan yang ditimbulkan pada DNA spermatozoa sehingga dapat meningkatkan kualitas dari semen beku.

Penelitian ini penting mengingat pembekuan spermatozoa merupakan bagian dari proses penyimpanan spermatozoa untuk keperluan inseminasi buatan. Dewasa ini hasil inseminasi buatan belum mampu menepi percepatan perkembangan ternak, terjadinya kegagalan pembuahan masih sering dijumpai di lapangan. Hal ini dapat dilihat dari angka kebuntingan setelah dilakukan inseminasi buatan. Banyak faktor yang menyebabkan kegagalan kebuntingan salah satunya kualitas semen beku akibat prosesing spermatozoa.

Penelitian ini meliputi pengukuran motilitas, viabilitas dan konsentrasi spermatozoa sapi setelah mengalami proses pembekuan, Pemeriksaan integritas membran spermatozoa sapi dengan metode Hypoosmotic Swelling Test, Isolasi DNA (NucleoSpin DNA II), Visualisasi RNA dengan menggunakan agarosa 1 % , Elektroforesis gel agarosa, Kuantifikasi konsentrasi DNA dengan menggunakan spektrofotometer, pemeriksaan mutasi DNA dengan RT PCR.

Keluaran yang dihasilkan dari penelitian ini adalah mengidentifikasi kerusakan DNA pada semen beku sehingga dapat mengoptimalkan produksi semen beku.

Kata kunci : krioprotektan, rapid freezing, mutasi DNA, spermatozoa